



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS DEL
GÉNERO *LACTOBACILLUS* DE LAVADOS DE INGLUVIS DE
PSITÁCIDOS DE COMPAÑÍA.

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

EDSON PAUL JUÁREZ ROJAS

ASESORES

DRA. Odette Urquiza Bravo

DR. Gary García Espinosa



Ciudad Universitaria, Cd. Mx.

2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

Cada que logro una meta; siempre es bueno detenerse a pensar en cosas importantes:

Cuanto hace uno para tratar de ser feliz. El verse con perspectiva; valorando todo lo bueno que nos rodea. En momentos así es importante ser consiente de donde estoy y poner en valor el camino que estoy recorriendo ¿Qué meta sigue? Por lo que dedico esta tesis a las personas más importantes en mi vida:

A Marisol, Fabiana y Alondra; las cuales son la familia que he podido elegir, con quienes pude crecer y aprender de la vida... mis mejores amigas.

Al Dr. Benjamín y a Eli; amigos que en estos años y en tan poco tiempo me apoyaron; enseñándome tanto de la vida como de mi profesión.

Por último y los más importantes dedico este trabajo a mis padres y abuelos; los pilares más importantes en mi vida. Sin su afecto y cariño no habría podido; ya que son los detonantes de mi felicidad y mi esfuerzo, de mis ganas de buscar lo mejor. Agradezco su apoyo incondicional para poder llegar a ser un profesional y un buen hombre, del cual yo estoy orgulloso; esperando que ustedes también lo estén.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, a mi gran Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por ser la casa de estudios donde he obtenido mis conocimientos profesionales. Gracias a todos esos profesores que fueron partícipes en este proceso a lo largo de la carrera a base de sus observaciones y enseñanzas. En especial a la Dra. Odette por su guía, apoyo, enseñanzas y amistad. Al Dr. Gary por haber confiado en mí y de haberme dado el apoyo y la oportunidad de desarrollar este proyecto.

Agradezco al Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia de Aves y al Hospital de Aves de Ornato y Compañía por albergarme en sus instalaciones y haberme permitido desarrollar el siguiente proyecto.

A Laboratorio Avimex por el apoyo con el software para la realización del estudio.

Finalmente agradezco a quien lee este apartado y más de mi tesis, por permitir a mis experiencias, investigaciones y conocimiento, incurrir dentro de sus lecturas.

CONTENIDO

RESUMEN	5
INTRODUCCIÓN	6
MATERIAL Y MÉTODOS.....	14
RESULTADOS.....	17
DISCUSIÓN	19
CONCLUSIONES	23
REFERENCIAS	25
FIGURAS	31
CUADROS	33

RESUMEN

JUAREZ ROJAS EDSON PAUL Aislamiento e identificación de bacterias del género *Lactobacillus* de lavados de ingluvis de psitácidos de compañía (bajo la dirección de: Dra. Odette Urquiza Bravo y Dr. Gary García Espinosa).

Las enfermedades del tracto gastrointestinal son consideradas importantes en la clínica de aves de compañía debido a las malas condiciones de cautiverio y las inadecuadas dietas por parte de propietarios. El uso de varias y diferentes especies de bacterias del género *Lactobacillus* como probiótico en las dietas de algunos animales domésticos (cerdos, bovinos, perros, peces, etc.) e incluso el humano ha generado información nueva acerca de los efectos positivos de *Lactobacillus* en los organismos de las especies que se les administra como probiótico. Existen trabajos de investigación de bacterias probióticas en aves domésticas y un poco menos en aves de compañía, pero son pocos los estudios realizados del efecto probiótico de los lactobacilos en psitácidos de compañía y cautiverio por lo que se desconoce cuáles son las especies que son habitantes comunes de los psitácidos. Por lo cual, se cultivaron muestras de lavados con solución salina fisiológica de ingluvis de psitácidos del Hospital de Aves de Ornato, Compañía y Silvestres del Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia de Aves de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-UNAM para conocer si existe la presencia de bacterias del género *Lactobacillus* como parte de la microbiota de los psitácidos por medio de aislamientos en medios selectivos; del cual en el presente estudio se aislaron e identificaron ocho diferentes especies de lactobacilos presentes en los psitácidos hospitalizados usados para este estudio.

INTRODUCCIÓN

Los psitácidos son aves que se encuentran en todo el mundo. Son animales muy populares como mascotas por su naturaleza sociable, inteligencia, colores brillantes y la capacidad para imitar sonidos. El orden *Psittaciformes* incluye a las familias *Psittacidae* (guacamayas, loros y pericos), *Cacatuidea* (Ninfas, cacatúas blancas, negras, rosadas o grises), *Stringopoidea* (Kaka, Kakapu y Kea), *Psittaculidae* (Loris, conuros y periquitos). No obstante, en la mayoría de las zonas de donde son originarias estas especies de aves el tráfico ilegal de animales y la deforestación afectan de manera directa y alarmante su población y ecosistema, provocando que sean animales en peligro de extinción (**Akhter et al., 2010**). Mientras que las aves que son capturadas o algunas otras que nacieron en cautiverio tienen otros riesgos a la salud, debido a las condiciones en cautiverio en que viven los *Psittaciformes*, como lo son: las dietas inadecuadas, las infecciones bacterianas y la falta de capacitación de los propietarios en proporcionar alimentación y manejos adecuados. Los loros son a menudo afectados por varias enfermedades bacterianas que con frecuencia se ven relacionadas a un desequilibrio de la microbiota nativa o con agentes patógenos del ambiente en respuesta a estrés e inmunodepresión, ejemplo de ello son los casos de enteritis bacterianas asociadas a *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp, *Salmonella* sp, *Pasteurella* sp, *Pseudomonas* sp, *Aeromonas* sp y *Citrobacter* sp (**Akhter et al., 2010**).

Los tratamientos que se llevan a cabo para el control de las enteritis bacterianas son mediante el uso de antibióticos, pero el uso indiscriminado de ellos uno de los factores más importante para favorecer la aparición, selección y diseminación de

microorganismos resistentes a los antibacterianos tanto en la medicina veterinaria como en la medicina humana (**Witte, 1998**). Actualmente se acepta que el principal factor de riesgo para el incremento de la resistencia a antimicrobianos en las bacterias patógenas es el aumento en el uso de antibióticos, esta situación se aplica al uso de antibióticos para la terapia y profilaxis de enfermedades infecciosas (**Van-den-Bogaard, 2000**).

La resistencia a los antibióticos afecta a las bacterias patógenas y a las bacterias de la microbiota endógena de los individuos expuestos (animales y humanos). Por otro lado, algunos antibióticos han sido utilizados en la dieta de aves de corral como promotores de crecimiento; por lo tanto, la selección para bacterias resistentes a antibióticos en las aves de corral es alta y en consecuencia su flora fecal contiene una proporción relativamente alta de éstas bacterias (**Hudson et al., 2000**), en el caso de las aves de compañía y ornato se han identificado patógenos como *S. entérica* serovar Typhimurium DT104 resistente a múltiples fármacos usados en psitácidos de compañía (**Hudson et al., 2000; Van-den-Bogaard, 1999**). En 1995, en Dinamarca, fue encontrada una prevalencia de enterococos aislados de cerdos y gallinas resistentes a la vancomicina (21 y 56%), eritromicina (91 y 59 %) y al quinupristin/dalfopristin (53 y 37%) debido al uso de estos antibióticos como promotores de crecimiento. En cambio, en Finlandia, donde la tilosina no es usada como promotor de crecimiento y sólo para usos veterinarios, la prevalencia de la resistencia de los enterococos a eritromicina es menor, 18 y 19% respectivamente (**Van-den-Bogaard, 2000**).

Los animales vertebrados mantienen una asociación compleja e íntima con una comunidad diversa de microorganismos que residen en su tracto gastrointestinal (**Ley et al., 2008**). Investigaciones recientes revelan que los microorganismos tienen un papel importante en muchos aspectos de la fisiología de un animal, incluyendo el desarrollo adecuado de la morfología intestinal y la función digestiva, así como la función inmune (**Leser, 2009**). Aunque se conoce el papel de la diversidad microbiológica, así como su importancia en la fisiología de los mamíferos, el rol biológico de los microorganismos intestinales en las aves sigue siendo ampliamente desconocido, debido a que las aves presentan dietas extremadamente complejas y únicas, rasgos fisiológicos y estrategias de desarrollo, además de que la capacidad de vuelo ha sido una fuerte presión selectiva sobre muchos aspectos de su fisiología, tal vez cambiando la naturaleza de su fauna intestinal (**Kohl, 2012**). Muchos estudios sobre la función de la comunidad microbiana se han llevado a cabo en especies de aves domésticas, lo que permite inferir el papel biológico de los microorganismos en las aves silvestres; tomados en conjunto, los resultados sugieren que la microbiota intestinal es un componente esencial en la salud, los microorganismos proveen varias funciones necesarias para el hospedero, incluyendo la ayuda en la digestión de alimentos, síntesis de vitaminas, protección en contra de agentes patógenos y desarrollo del sistema inmune (**Ruiz-Rodríguez et al., 2009**).

Comprendiendo la participación de la microbiota en la evolución de las aves, su desarrollo puede ser influenciado por la genética de las aves y las diferentes variantes del medio ambiente, sin embargo, las aves a diferencia de los

mamíferos, nacen a partir de huevos, tienen un primer contacto con los microorganismos que habitan los cascarones, estos sirven como primer inóculo para el desarrollo de la microbiota nativa, además, de que el comportamiento de alimentación y anidación de los padres pueden modificarla entre los individuos de una misma especie (**Ruiz-Rodríguez et al., 2009**).

Las bacterias Gram negativas se han asociado con infecciones tanto primarias como secundarias del sistema gastrointestinal aviar, una vez presentados los signos clínicos gastrointestinales, como son: anorexia, diarrea, regurgitación o vómito, y de que las bacterias penetren la mucosa del tracto gastrointestinal, la probabilidad de presentarse una enfermedad sistémicas y la muerte es más alta (**Fudge, 2001; Evans et al., 2014**). La microbiota nativa de las aves psitácidas está compuesta predominantemente de bacterias Gram positivas, aunque algunas bacterias Gram negativas pueden aislarse de aves clínicamente sanas (**Bowman, 1980; Flammer, 1988; Bangert et al., 1988**). Los organismos Gram positivos comúnmente aislados de las aves psitácidas son especies de *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Lactobacillus*, las bacterias del género *Lactobacillus* son bacterias no patógenas, las bacterias patógenas de importancia clínica aisladas del tracto gastrointestinal de las aves son principalmente Gram negativas, los cuales comúnmente aislados de las aves psitácidas incluyen especies de *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Pasteurella* y *Klebsiella* (**Evans et al., 2014**).

Las bacterias Gram positivas productoras de ácido láctico, se encuentran entre los microorganismos más frecuentemente usados como probióticos, las bacterias más

usadas son las pertenecientes al género *Lactobacillus* sp y se utilizan ampliamente en productos lácteos fermentados, alimentos, y productos cárnicos (**Stern et al., 2006; Cleveland, 2001**). El género *Lactobacillus* es un grupo de bacterias ácido lácticas que comprenden un gran número de cocobacilos y bacilos. Actualmente, se conocen más de 50 especies presentes en la leche, productos lácteos, otros alimentos y bebidas fermentadas, vegetales y aguas residuales (**Lawson et al., 2001**). Los *Lactobacillus* también son encontrados en el tracto intestinal y las membranas mucosas del hombre y varios animales (**Hammes, 2006**).

La Organización Mundial de la Salud define a los probióticos como microorganismos vivos que cuando se administran en cantidades adecuadas confiere un beneficio de salud al hospedero (**FAO/OMS, 2001**). Los probióticos son microorganismos vivos de origen no patógeno y no tóxico, que, administrados a través de la vía oral son favorables para la salud del hospedero (**Guillot, 2001**). Los probióticos han sido usados en tratamiento y prevención de las diarreas infecciosas agudas en infantes y niños (**Van-Niel et al., 2002**). La administración oral de lactobacilos como profiláctico reduce significativamente el riesgo de diarrea por gastroenteritis por rotavirus nosocomial (**Szajewska et al., 2001**). Hasta 2010 ninguna terapia de antibióticos mostró la eficacia en reducir la tasa de morbilidad por *Escherichia coli* entero hemorrágica (ECEH) e infecciones con *Citrobacter rodentium* en ratones, como lo hicieron tratamientos previos con probióticos (*Lactobacillus*), que atenuaron infecciones con *C. rodentium* en ratones adultos (**Gereau et al., 2010; Jhonson-Henry et al., 2005; Chen et al., 2005**). Gilliland y

Spect *et al.*, (1977), notificaron que la acción antibacterial producida por *Lactobacillus* es probablemente debido a la combinación de varios factores incluidos ácidos, peróxido de hidrógeno y otras sustancias inhibitorias (**Gilliland, 1977**).

En pollos de engorda, las especies de probióticos más usadas pertenecen a los géneros de *Lactobacillus* sp, *Streptococcus* sp, *Bacillus* sp, *Bifidobacterium* sp, *Enterococcus* sp, *Aspergillus* sp, *Candida* sp y *Saccharomyces* sp, que tienen efectos benéficos como moduladores de la microbiota intestinal y la inhibición de patógenos, pero también como inmunomoduladores (**Mounzouris et al., 2007; Higgins et al., 2008**). Existen enzimas producidas por estos géneros que son activas solamente en contra de otras bacterias ácido lácticas, y que tienen actividad en contra de otras bacterias Gram positivas y contra otras bacterias Gram negativas (**Eijsink et al., 1998**), Stern (2006) demostró un significativo decremento de *Campylobacter jejuni* en muestras de intestino de aves de corral después del tratamiento con cultivos de *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus faecium* (**Stern et al., 2006**).

En la avicultura intensiva se han utilizado como probióticos las especies de *Lactobacillus acidophilus*, *L. fermentum*, *L. buchneri*, *L. rumis*, *L. delbrueckii*, *L. coryniformis* y *L. viridescens*; que fueron aisladas originalmente del tracto digestivo de aves domésticas (**Belkacem et al., 2009**). Durante la primera década del uso de probióticos dentro de la avicultura, toda la información se centró en la avicultura comercial, la industria avícola siempre ha enfrentado retos como el hacer frente a los trastornos gastrointestinales, la necesidad de maximizar la conversión

alimenticia y las tasas de crecimiento, dificultades y gastos del uso de tratamientos con antimicrobianos (**Smith, 2014**).

En la década de 1950 se describió la flora bacteriana nativa de pollos y pavos, estableciendo varias especies de lactobacilos y cocos anaeróbicos como flora nativa predominante (**Smith, 2014; Harrison, 1950; Shapiro et al., 1949**). Además, Nurmi y Rantala (1973), demostraron que existe una resistencia a la colonización por *Salmonella* posterior a la dosificación del contenido intestinal de aves adultas y sanas a pollitos recién eclosionados (**Nurmi, 1973**). Los *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. fermentum* y *L. salivarius*) y ciertos cocos Gram positivos son los microorganismos que participan en la protección de polluelos (**Lan et al., 2003**). Fuller, en 1974, notificó la relación entre los lactobacilos y el ingluvis de las aves, proporcionando información sobre la variabilidad de los resultados observados cuando se administran lactobacilos y otras bacterias benéficas a las aves de corral, además de descubrir que los lactobacilos deben unirse a las células de la mucosa intestinal para conferir sus efectos benéficos (**Fuller, 1974**). A finales de los años sesenta y setenta, la industria de las aves de compañía en Estados Unidos de Norteamérica se expandía, debido a la importación y a la cría en cautividad doméstica. En los años setenta, los avicultores comenzaron a usar probióticos desarrollados para aves de corral o suplementos de especies de *Lactobacillus* de mamíferos, pero estos productos fueron etiquetados como suplementos nutricionales y su eficacia en aves psitácidas fue desconocida (**Fuller, 1974**). En 2003, un estudio informó una mejora significativa en las tasas de crecimiento, informando de la reducción de bacterias

Gram negativas y el aumento en el número total de especies de *Lactobacillus* en polluelos de Ninfas (*Nymphicus hollandicus*) que recibieron *Lactobacillus salivarius* aislado de células epiteliales de cultivos de ninfas adultas (Tully *et al.*, 1998).

JUSTIFICACIÓN

Existen trabajos de investigación de bacterias utilizadas como probióticas en aves domésticas y un poco menos en aves de compañía, pero no hay un amplio conocimiento de la presencia de bacterias del género *Lactobacillus* en otras especies de aves psitácidas hospitalizadas, los cuales podrían ser útiles como tratamientos preventivos y novedosos para reducir trastornos entéricos y respiratorios.

OBJETIVOS

Determinar la presencia de bacterias del género *Lactobacillus* a partir de muestras de lavados de ingluvis de psitácidos hospitalizados mediante sistemas miniaturizados de fermentación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Selección de individuos. Se utilizaron nueve aves psitácidas del Hospital de Aves de Ornato, Compañía y Silvestres del Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia de Aves de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (HAOCS-FMVZ). En dicho Hospital ingresan normalmente a consulta psitácidos, de los cuales se seleccionaron aves sin tratamiento médico de antibióticos y sólo con manejo de dieta balanceada basada en 70% frutas de temporada picadas, 10% croquetas comerciales para loros (libre de probióticos como aditivos) y 20% mezcla de semillas (alpiste, mijo rojo, mijo blanco, niger y semillas de girasol).

Toma de muestras. Las aves tuvieron un ayuno de 8 horas para la recolección de la muestra de ingluvis (**Enkerlier-Hjoeflich et al., 1999**). El manejo y sujeción se llevó a cabo por el personal médico del HAOCS-FMVZ.

Por cada ave se usó una jeringa desechable y estéril la cual fue llenada con 10 ml de solución salina fisiológica (SSF) estéril a una temperatura de 30°C. Posteriormente, a la jeringa se le retiró la aguja y se conectó a la sonda de metal para alimentación forzada, previamente desinfectada con solución de clorhexidina por 15 minutos y a una temperatura de 30°C. Una vez seca y desinfectada la sonda se realizó el sondeo identificando la comisura izquierda del pico para introducir con una dirección hacia el lado derecho del ave y empujando la punta redonda de la sonda hasta el fondo de la cavidad orofaríngea. Después de verificar que la sonda estuviera en ingluvis se administró la SSF, se masajeó exteriormente para después succionar la muestra y verter el contenido de la

jeringa en un tubo estéril de 15 ml con tapa, previamente identificado con los datos de cada ave.

Aislamiento e identificación de los microorganismos. Cada muestra fue homogenizada en un Vortex* antes de sembrarse en el agar MRS** (medio con peptona y dextrosa, polisorbato 80, acetato, magnesio y manganeso, más 1% de agar), posteriormente se usó un asa bacteriológica para sembrar por estría continua sobre toda la superficie en agar MRS. Las cajas de Petri se colocaron en un contenedor con generadores de ambientes de anaerobiosis *** y se incubaron a una temperatura entre 37 a 40°C durante 48 horas. Del crecimiento bacteriano observado posterior a la incubación, las colonias sospechosas se tiñeron con Tinción de Gram y se sembraron en cultivo puro a 37°C en anaerobiosis en el agar MRS, posteriormente, las bacterias teñidas Gram positivas se les realizó pruebas de oxidasa, catalasa y KOH al 3%.

Las colonias que resultaron negativas a las pruebas de oxidasa, catalasa y KOH al 3% se les realizó un nuevo cultivo puro en agar MRS para identificar por medio del sistema API 50 CHL****(micro pruebas estandarizadas de fermentación de carbohidratos). Los resultados se basaron en el cambio de color debido a la capacidad de las bacterias de fermentar el carbohidrato en cada cámara, obteniéndose un código y perfil numérico por cada muestra analizada (**FIGURA 1**).

La lectura de las muestras se realizó utilizando la base de datos del fabricante para obtener el género y la especie del microorganismo (**FIGURA 2**). Se llevó a cabo un control de las pruebas API 50 CH con una colonia de *Lactobacillus casei*

del Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia de Aves previamente identificada por el método de identificación BBL Crystal ID.

* Vortex-Genie2 Scientific Industris Inc. SKU: SI-0236 Manufactured in the United States

** Difco™ Lactobacilli MRSAgar 500g Ref: 288210., CP:38800 Le Pont de Claix, France.

***Bd GasPak™ EZ Anaerobe Container System Ref:260678 CP: 21152 Maryland, USA.

**** bioMerieux[®] S.A. APIR50 CH Ref: 50300., CP:69280 Marcy l'Eyoile, France.

RESULTADOS

Aislamientos e identificación de bacterias. Para la realización del estudio sólo nueve aves fueron seleccionadas, estas llegaron a consulta y permanecieron hospitalizadas en el HAOCS de la FMVZ, aves que cubrían las necesidades para la toma de muestras de ingluvis, cada una de las nueve aves pertenece a una especie diferente (*Ara macao*, *Ara ararauna*, *Amazona autumnalis*, *A. viridigenalis*, *Aratinga mitrata*, *Pionus senilis*, *Psittacus erithacus*, *Eolophus roseicapilla* y *Cacatua alba*). De las nueve aves muestreadas para el proyecto, todas las muestras tuvieron un crecimiento en el agar MRS, el número de diferentes colonias que creció a partir de cada muestra no fue el mismo, pero hubo un crecimiento en total de dieciocho colonias en las nueve muestras sembradas, las colonias se caracterizaban por ser de forma circular de un tamaño variable entre 1 a 5 mm de diámetro, colonias de forma convexa y lisas, además de presentar un color blanco. En el **CUADRO 1** se describen más ampliamente las colonias, así como también se enumeran las diferentes colonias que crecieron en el agar selectivo, también se describe el género y especie de las dieciocho colonias de bacterias resultado de los Kits API 50CHL (bioMerieux^R S.A.).

La presencia de *Lactobacillus* en todas las muestras del contenido de ingluvis fue positiva, presentándose al menos una especie por muestra y el mayor de los casos hubo hasta cuatro especies diferentes por muestra, *Lactobacillus paracasei paracasei* y *L. salivarius* fueron las bacterias con una mayor frecuencia de aislamiento en el muestreo de las aves, mientras que solo se aisló una vez cada una de las siguientes especies *L. fermentum*, *L. buchneri*, *L. pentosus*, y *L.*

plantarum, en el **CUADRO 2** se indica la frecuencia en que fueron aislados y en que aves se aislaron.

Además de las especies de *Lactobacillus* aisladas e identificadas en el estudio, también se aislaron dos bacterias con características similares a los lactobacilos, pero identificadas como bacterias de diferente género, estas bacterias pertenecen al grupo de bacterias ácido-lácticas: *Weissella confusa* que se aisló a partir de las muestras de las aves *Ara ararauna* y *Psittacus erithachus*, mientras que en la muestra de *Ara macao* se aisló una especie de *Leuconostoc mesenteroides mesenteroides*, en el **CUADRO 3** se describe información acerca de estas dos especies.

DISCUSIÓN

En este trabajo se llevó el aislamiento e identificación de diferentes especies bacterianas del género *Lactobacillus* a partir de las muestras obtenidas de los psitácidos hospitalizados bajo el resguardo del Hospital de Aves, el crecimiento en todas las muestras fue positivo, en cada muestra crecieron mínimo una colonia de *Lactobacillus*, a las cuales se les realizó la identificación de cada muestra de crecimiento bacteriano. Los resultados fueron diez diferentes especies de bacterias ácido-lácticas de las cuales ocho pertenecen a bacterias del género *Lactobacillus* (*L. salivarius*, *L. paracasei paracasei*, *L. fermentum*, *L. acidophilus*, *L. buchneri*, *L. plantarum*, *L. brevis* y *L. pentosus*), además de otras dos especies que no eran lactobacilos (*Weissella confusa* y *Leuconostoc mesenteroides mesenteroides*), pero sí bacterias con características de ácido lácticas.

No hay reportes de psitácidos en la literatura del aislamiento de las mismas especies de lactobacilos identificados en este estudio, sin embargo, hay mención de otras especies de *Lactobacillus* aisladas en psitácidos, en 1988 se informó el aislamiento en mayor frecuencia de bacterias del género *Lactobacillus* en una colección de sesenta aves, entre colecciones privadas y aves de tiendas de mascotas (**Bangert et al., 1988**), mientras que en estudios realizados en periquitos silvestres (*Forpus passerinus*) se aislaron cinco colonias de *Lactobacillus delbrueckii* de muestras de ingluvis (**Pacheco et al., 2004**). En 2001 se aisló una nueva especie de lactobacilo (*Lactobacillus Psittaci*) a partir de una muestra *postmortem* de pulmón derecho de una guacamaya Jacinto

(*Anodorhynchus hyacinthinus*) encontrada muerta en su recinto (**Lawson et al., 2001**)

En otras aves, animales e incluso en la especie humana, han sido aisladas especies de lactobacilos similares a las identificadas en este proyecto. *Lactobacillus salivarius* es una de las especies más frecuentemente aislada en este estudio, aislada en cuatro de las nueve especies de psitácidos que estuvieron en el hospital (*Eolophus roseicapilla*, *Amazona viridigenalis*, *Amazona autumnalis*, *Ara macao*), esta especie ha sido estudiada en la evaluación de la microbiota del tracto digestivo en las aves domésticas, Kurzak et al., (1998), evaluaron el contenido intestinal y de ingluvis de patos de diferentes edades, identificando ocho diferentes especies de lactobacilos, dentro de las cuales demostró que bacterias como *L. salivarius* y *L. acidophilus* forman parte de la microbiota tanto de psitácidos, como de patos (**Kurzak et al., 1998**). En gallinas se han identificado a partir de heces y lavados de tracto gastrointestinal tres especies de lactobacilos (*L. plantarum*, *L. salivarius* y *L. buchneri*) como parte de la microbiota (**Stern, et al., 2006; Dumonceaux et al., 2006; Ibourahema, et al., 2008**), estas especies son similares a las especies identificadas en este trabajo a partir de los lavados de los ingluvis en *Pionus senilis* y *Amazona viridigenalis*,

La muestra de *Amazona viridigenalis* es la muestra con una mayor cantidad de diferentes especies identificadas (*Lactobacillus salivarius*, *L. fermentum*, *L. acidophilus* y *L. buchneri*), especies las cuales también han sido reportas en otras aves domésticas como gallinas y pollos de 3 semanas de edad (**Jin et al.,1998**), mientras que en el presente estudio se aislaron del ingluvis de *Amazona viridigenalis*, *Aratinga mitrata*, *Cacatua alba* y *Psittacus erithacus*. En pollos

también se ha aislado *L. salivarius*, *L. rhamnosus* y *L. acidophilus*, especies que se aislaron en los ingluvis de nuestros psitácidos y que son bacterias que tienen propiedades y la capacidad de usarse como probióticos (**Ashraf et al., 2009**).

En la especie humana, han sido aisladas especies de *Lactobacillus* similares a las identificadas en este proyecto, como las colonias de *L. paracasei* ssp aisladas de humanos adultos entre 60 a 90 años, en las cuales mediante un ensayo demostraron tener un efecto antimicrobiano en contra de microorganismos potencialmente patógenos como *C. albicans*, *E. coli*, *S. aureus*, *C. perfringens* y *S. mutans* (**Verdenelli et al., 2009**). *L. paracasei* ssp, no sólo ha demostrado tener un efecto bactericida en humanos, muestras de *L. paracasei* ssp, *L. acidophilus* y *L. plantarum* a partir de leche de burra y muestras de perros demostraron su actividad en contra de bacterias Gram negativas (*Salmonella* sp, *Escherichia coli*, y *Citrobacter* sp, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*) y de algunas bacterias Gram positivas (*Enterococcus* sp, *Staphylococcus*, *Listeria*, *Corynebacterium* y *Bacillus*), demostrando que la actividad de *Lactobacillus plantarum* fue superior a la de *L. acidophilus* (**Kim et al., 2016, Ashokkumar et al., 2011**). Otras especies similares a las aisladas en este estudio son las muestras de *Lactobacillus pentosus*, *L. plantarum* y *L. paracasei* ssp que fueron aislados como flora normal de anguilas (*Anguilla japonica*) por medio del sistema API 50 CHL (BIOMERIUX), demostrando tener una actividad probiótica y bactericida en contra de otras bacterias como *Vibrio anguillarum*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi*, *Escherichia coli*, *Edwardsiella tarda* y *Streptococcus iniae* (**Lee et al., 2015**). al no poder colonizar de una misma forma

los lactobacilos aislados de mamíferos que son suministrados como suplemento en las aves domésticas y de compañía, el presente estudio amplía la información de nuevas especies de *Lactobacillus* (*L. salivarius*, *L. paracasei paracasei*, *L. fermentum*, *L. acidophilus*, *L. buchneri*, *L. plantarum*, *L. brevis* y *L. pentosus*) aisladas específicamente de psitácidos que pueden ser estudiadas de manera *in vitro* o *in vivo* para conocer algunos de los efectos sobre los organismos de los hospederos y de ser posible tener la capacidad de ser usadas como probióticos específicos para psitácidos de compañía y cautiverio.

CONCLUSIONES

En la presente tesis se aislaron e identificaron ocho diferentes bacterias del género *Lactobacillus*: *Lactobacillus salivarius*, *L. paracasei paracasei*, *L. fermentum*, *L. acidophilus*, *L. buchneri*, *L. plantarum*, *L. brevis* y *L. pentosus* a partir de muestras de lavados de ingluvis de psitácidos, de las cuales no hay alguna notificación o mención en la literatura de estas especies de psitácidos e incluso en otras especies de psitácidos.

Además de estas las especies de *Lactobacillus* también se aislaron una especie de *Weissella confusa* y otra especie de *Leuconostoc mesenteroides mesenteroides* bacterias ácido lácticas que también se han aislado en muestras de humanos, otros mamíferos, peces y algunas aves domésticas (patos y pollos de engorda) con fines para el uso como probióticos.

Perspectivas a futuro

A partir de la identificación de las bacterias aisladas en el presente estudio se podría realizar el desarrollo de investigaciones para conocer el efecto de los *Lactobacillus* aislados en el organismo de los psitácidos para posteriormente saber si es posible el desarrollo de suplementos alimenticios, en lo que se refiere al tipo de formulación-presentación del producto, la dosis de inoculación. Además del desarrollo de cultivos específicos de las especies con mejores efectos para las aves psitácidas. Así como profundizar en las investigaciones de otros efectos benéficos de los lactobacilos como apoyo en el tratamiento de las aves que reciben antibióticos orales o en el tratamiento de las aves inmunodeprimidas y la

inoculación de las crías sin contacto parental, el alimentar a las aves con *Lactobacillus* parece ser una profilaxis eficaz para restablecer la estabilidad de la flora intestinal sin los efectos adversos frecuentemente observados con los antibióticos, la información de estudios previos a la administración de lactobacilos a psitácidos excluye de signos clínicos asociados a un desbalance en la flora intestinal como diarrea, vómitos, deshidratación y apatía, lo que ayuda a concluir que la suplementación con *Lactobacillus* en dosis adecuada no provoca ningún daño. Bacterias de especies similares a las aisladas e identificadas en este estudio ya se han reportado con un uso como probióticos en humanos, otros mamíferos y peces, algunos de los efectos positivos como probióticos se mencionan a continuación en el **CUADRO 4**.

El conocimiento de la presencia de nuevas especies de lactobacilos, que no se habían aislado anteriormente y que pueden ser parte de la microbiota nativa de aves psitácidas, permitirá continuar realizando investigaciones para establecer nuevas especies bacterianas con características probióticas, como las bacterias *Weissella confusa* y *Leuconostoc mesenteroides mesenteroides* que durante el desarrollo del trabajo también fueron aislados e identificados a partir de los lavados de ingluvis de las aves psitácidas.

REFERENCIAS

Akhter J, Hossainm. T, Islam MT, Siddique MP, Islam MA. Isolation and identification of microflora from apparently healthy caged parrots of Dhaka Zoo of Bangladesh. *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine*. 2010; 8(1):05-10. doi: 10.3329/bjvm.v8i1.8349

Witte W. Medical consequences of antibiotic use in agriculture. *Science*. 1998 Feb; 279(5353):996-997. doi: 10.1126/science.279.5353.996

Van Den Bogaard AE, Stobberingh EE. Epidemiology of resistance to antibiotics links between animals and humans. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2000 May; 14(4): 327 – 335. doi: 10.1016/s0924-8579(00)00145-X

Hudson CR, Quist C, Lee MD, Keyes K, Dodson SV, Morales C, Sanchez S, White DG, Maurer JJ. Genetic relatedness of salmonella isolates from nondomestic bird in southeastern United States. *Journal of Clinical Microbiology*. 2000 May; 38(5): 1860-1865 doi: PMC86608

Van Den Bogaard AE, Stobberingh EE. Antibiotic usage in animal impact on bacterial resistance and public health. *Drugs*. 1999 Oct; 58(4): 589-607 doi: 10.2165/00003495-199958040-00002

Ley RE, Hamady M, Lozupone C, Turnbaugh PJ, Ramey RR, Bircher JS, Schlegel ML, Tucker TA, Screnzel MD, Knight R, Gordon JI. Evolution of mammals and their gut microbes. *Science*. 2008 May. 320(5883): 1647 – 1651 doi: <https://dx.doi.org/10.1126%2Fscience.1155725>

Leser TD, Milbank L. Better living through microbial action: the benefits of the mammalian gastrointestinal microbiota on the host. *Enviro. Microbial*. 2009 Sep. 11(9): 2194-2206 doi: 10.1111/j.1462-2920.2009.01941.x

Kohl KD. Diversity and function of the avian gut microbiota. *Journal Comp. Physiol, B*. 2012 January. 182(5): 591-602 doi: 10.1007/s00360-012-0645-z

Ruiz-Rodriguez M, Lucas FS, Heeb F, Soler JJ. Differences in intestinal microbiota between avian brood parasites and their hosts. *Biological Journal of the Linnean Society*. 2009 Ene. 96(2): 406 – 414 doi: 10.1111/j.1095-8312.2008.01127.x

Fudge AM. Diagnosis and treatment of avian bacterial diseases. *Journal of Exotic Pet Medicine*. 2001 Ene. Vol.10(1): 3 – 11 doi: <http://dx.doi.org/10.1053/saep.2001.19542>

Evans EE, Mitchell MA, Whittington JK, Roy A, Tully TN. Measuring the level of agreement between cloacal gram's stains and bacterial cultures in Hispaniola Amazon Parrots (*Amazona ventralis*). *Journal of Avian Medicine and Surgery*. 2014 Dec. 28(4): 290 - 296 doi: <http://dx.doi.org/10.1647/2012-042>

Bowman TA, Jacobson ER. Cloacal flora of clinically normal captive psittacine birds. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 1980 Sep. 11(3): 81 – 85 doi: 10.2307/20094478

Flammer K, Drewes LA. Species-related differences in the incidence of Gram- negative bacteria isolated from cloacal of clinically normal psittacine birds. *Avian Diseases*. 1988 Ene. – Mar. 32(1): 79 – 83 doi: [10.2307/1590952](https://doi.org/10.2307/1590952)

Bangert RL, Cho BR, Widders PR, Stauber EH, Ward ACS. A survey of aerobic bacteria and fungi in the faces of healthy psittacine birds. *Avian Diseases*. 1988 32:46 – 52 doi: [10.2307/1590947](https://doi.org/10.2307/1590947)

Stern NJ, Svetoch EA, Eruslanov BV, Perelygin VV, Mitsevich EV, Mitsevich IP, Pokhilenko VD, Levchuk VP, Svetoch OE, Sealb.S. Isolation of a *Lactobacillus salivarius* Strain and purification of its bacteriocin, which is inhibitory to *Campylobacter jejuni* in the chicken gastrointestinal system. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Sep 2006. 50(9): 3111 -3116 doi: [10.1128/AAC.00259-06](https://doi.org/10.1128/AAC.00259-06)

Cleveland J, Montville TJ. Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *International Journal of Food Microbiology*. 2001 Dec. 71(1): 1 – 20 doi: [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00560-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00560-8)

Lawson P, Wachter C, Hansson I, Falsen E, Collinsm D. *Lactobacillus psittaci* sp Nov., isolated from a hyacinth macaw (*Anodohynchus hyacinthinus*). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2001 May. 51(3): 967 – 970 doi: <https://doi.org/10.1099/00207713-51-3-967>

Hammes WP, Hertel C. The genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium* En: DWORKIN M. (eds.) *The Prokaryotes*. Tercera edición. New York, USA: Springer Science. 2006 Ene. 4:320-403 doi: [10.1007/0-387-30744-3_10](https://doi.org/10.1007/0-387-30744-3_10)

Food and Agriculture Organization of the United Nations. World Health Organization. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. (2001) Probiotics in food health and nutritional properties and guidelines for evaluation. Cordoba, Argentina, 1-4 October 2001 doi: <http://www.fao.org/3/a-a0512e.pdf>

Guillot JF. Consequences of probiotics release in the intestine of animals Brufau J. (ed.). *Feed Manufacturing in the Mediterranean region. Improve safety: From feed to food*. 2001 54:17-21 doi: <http://om.ciheam.org/om/pdf/c54/01600006.pdf>

van Niel CW, Feudthner C, Garrison MM., Christakis DA. (2002) *Lactobacillus* therapy for acute infections diarrhea in children: a meta-analysis. *Pediatrics*. 2002 Apr. 109(4): 678-84 doi: [11927715](https://doi.org/10.11927715)

Szajewska H, Kotowska M, Mrukowicz JZ, Armanska M, Mikołajczyk W. Efficacy of *Lactobacillus GG* in prevention of nosocomial diarrhea in infants. *Journal Pediatrics*. Marz 2001. 138(3): 361 – 5 doi: <http://dx.doi.org/10.1067/mpd.2001.111321>

Gereau MG, Wine E, Reardon C, Sherman PM, Probiotics prevent death caused by *Citrobacter rodentium* infection in neonatal mice. *The Journal of Infectious Diseases*. Ene 2010. 201(1): 81 - 91 doi: <https://doi.org/10.1086/648614>

Jhonson-Henry KC, Nadjafi M, Avitzur Y, Mitchell DJ, Ngan BY, Galindo-Mata E, Jones NL, Sherman PM. Amelioration of the effects of *Citrobacter rodentium* infection in mice by pretreatment with probiotics. *The Journal of Infectious*. Jun 2005. 15:191(12):2106-17 doi: <https://doi.org/10.1086/430318>

Chen CC, Louie S, Shi HN, Walker WA. Preinoculation with the probiotic *Lactobacillus acidophilus* early in life effectively inhibits murine *Citrobacter rodentium* colitis. *Pediatric Research*. Dic 2005. 58(6):1185 – 1191 doi: [10.1203/01.pdr.0000183660.39116.83](https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000183660.39116.83)

Gilliland SE, Speck ML. Antagonistic action of *Lactobacillus acidophilus* toward intestinal and foodborne pathogens in associative cultures. *Journal of Food Protection*. Dic 1977. 12 (4): 820 – 823 doi: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-40.12.820>

Mounzouris KC, Tsrtsikos P, Kalamara E, Nitsch S, Schatzmayr G, Fegeros K. Evaluation of efficacy of a probiotic containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* and *Pediococcus* strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities. *Poultry Sci*. Feb 2007. 86: 309 – 317 doi: <https://doi.org/10.1093/ps/86.2.309>

Higgins SE, Higgins JP, Wolfedden AD, Henderson SN, Torres-Rodriguez A, Tellez G, Hargis B. Evaluation of a *Lactobacillus*-based probiotic culture for the reduction of *Salmonella enteritidis* in neonatal broiler chicks. *Poultry Sci*. Ene 1987. 87(1): 27 - 31 doi: [10.3382/ps.2007-00210](https://doi.org/10.3382/ps.2007-00210)

Eijsink VGH, Skeie M, Middelhoven PH, Brurberg MB, Nes IF. Comparative studies of class IIa bacteriocins of lactic acid bacteria. *Appl Environ Microbiol*. Sep 1998. 64(9): 3275 – 3281 doi: PMC106721

Belkacem B, Meriem M, Mebrouk K. Probiotic potential of thermotolerants *Lactobacilli* isolated from chicken gastrointestinal digestive and their use as poultry feed. *World Applied Sciences Journal*. 2009. 7(8): 951 - 957 doi: [http://www.idosi.org/wasj/wasj7\(8\)/2.pdf](http://www.idosi.org/wasj/wasj7(8)/2.pdf)

Smith JM. A review of Avian Probiotics. *Journal of Avian Medicine and Surgery*. Jun 2014. 28(2): 87 – 94 doi: <https://doi.org/10.1647/2012-031>

Harrison AP, Hansen PA. The bacterial flora of the cecal feces of healthy turkeys. *Journal Bacteriology*. Feb 1950. 59(2): 197 - 210 doi: PMC385742

Shapiro SK, Rhodes RA, Sarles WB. *Lactobacillus* in the intestinal tract of the chicken. *Journal Bacteriology*. Nov 1949. 58(5): 689 – 694 doi: PMC385686

Nurmi E, Rantala M. New aspects of *Salmonella* infection in broiler production. *Nature*. Ene 1973. 241(5386): 210 – 211 doi: 10.1038/241210a0

Lan PT, Binh Le T, Benno Y. Impact of two *Lactobacillus* strains feeding on fecal lactobacilli and weight gains in chicken. *The Journal of General and Applied Microbiology*. Feb 2003. 49(1): 29 – 36 doi: 12682864

Fuller R, Brooker BE. Lactobacilli which attach to the crop epithelium of the fowl. *American Journal of Clinical Nutrition*. Nov 1974. 27(11): 1305 – 1312 doi: <http://ajcn.nutrition.org/content/27/11/1305.short>

Tully TN, Shane SM, Kearney MT. Evaluation of two *Lactobacillus acidophilus* formulations as dietary supplements in neonatal Cockatiels (*Nymphicus hollandicus*). *Journal of Avian Medicine and Surgery*. Mar 1998. 12(1): 25 – 29 doi: <http://www.ijstor.org/stable/30133141>

Enkerli-Hjoeflich EC, Packard JM, Gonzalez-Elizondo JJ. Safe field techniques for nest inspections and nestling crop sampling of parrots. *Journal of Field Ornithology*. Dic 1999. 70:8-17 doi: <http://www.jstor.org/stable/4514376>

Pacheco MA, García-Amado MA, Bosque C, Domínguez-Bello MG. Bacteria in the crop of the seed-eating Green-rumped parrotlet. *The Condor-American Ornithological Society*. Feb 2004. 106(1): 139 – 143 doi: <https://doi.org/10.1650/7406>

Kurzak P, Ehrmann MA, Vogel RF. Diversity of Lactic acid bacteria associated with Ducks. *System Appl Microbiol*. Dice 1998. 21(4): 588 – 592 doi: [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(98\)80071-4](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(98)80071-4)

Dumonceaux TJ, Hill JE, Hemmingsen SM, van-Kessel AG. Characterization of intestinal microbiota ad response to dietary virginiamycin supplementation in the broiler chicken. *Applied and Environmental Microbiology*. Abr 2006. 72(4): 2815 – 2823 doi: 10.1128/AEM.72.4.2815-2823.2006

Ibourahema C, Dauphin RD, Jacqueline D, Thonart P. Characterization of lactic acid bacteria isolated from poultry farms in Senegal. *African Journal of Biotechnology*. Jun 2008. 7(12): 2006 – 2012 doi: <http://dx.doi.org/10.5897/AJB2008.000-5048>

Jin LZ, Ho YW, Abdullah N, Jalaludin S. Acid bile tolerance of *Lactobacillus* isolated from chicken intestine. *Letters in Applied Microbiology*. Sep 1998. 27(3): 183 – 185 doi: 10.1046/j.1472-765X.1998.00405.x

Ashraf M, Arshad M, Siddique M, Muhammad G. *In vitro* screening of locally isolated *Lactobacillus* species for probiotic properties. *Pakistan Veterinary Journal*. 2009. 29(4): 186 – 190 doi: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DJ2012042917>

Verdenelli MC, Ghelfi F, Silvi S, Orpianesi C, Cecchini C, Cresci A. Probiotic properties of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus paracasei* isolated from human faeces. *Eur J Nutr*. Sep 2009. 48(6): 355 – 363 doi: 10.1007/s00394-009-0021-2

Kim EJ, Kang YI, Bang TI, Lee MH, Lee SW, Choi IS, Song CS, Lee JB, Park SY. Characterization of *Lactobacillus reuteri* BCLR-42 and *Lactobacillus plantarum* BCLP-51

as novel dog probiotics with innate immune enhancing properties. Korean Journal of Veterinary Research. 2016. 56(2): 75 – 84 doi: 10.14405/kjvr.2016.56.2.75

Ashokkumar S, Krishna S, Pavithra V, Hemalatha V, Ingale P. Production and antibacterial activity of bacteriocin by *Lactobacillus paracasei* isolated from donkey milk. International Journal of Current Science. 2011. 1:109-115 doi: http://www.currentsciencejournal.info/issuespdf/111_Manuscript%20.pdf

Lee JS, Damte D, Lee SJ, Hossain MA, Belew S, kim JY, Rhee MH, Kim JC, Park SC. Evaluation and characterization of a novel probiotic *Lactobacillus pentosus* PL11 isolated from Japanese eel (*Kanguilla japonica*) for its use in aquaculture. Aquaculture Nutrition. Ago 2015. 21(4): 444 – 456 doi: 10.1111/anu.12176

Jespersen L, Ternow I, Eskesen D, Morberg MC, Michelsen B, Bugel S, Dragsten LO, Rijkers GT, Calder PC. Effect of *Lactobacillus paracasei paracasei*, *L. casei* 431 on immune response to influenza vaccination and upper respiratory tract infections in healthy adult volunteers: a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study. American Journal of Clinical Nutrition. Jun 2015. 101(06): 1188 – 1196 doi: 10.3945/ajcn.114.103531

Maldonado J, Cañabate F, Sempere L, Vela F, Sanchez AR, Narboa E, Lopez-Huertas E, Geeerlings A, Valero AD, Olivares M, Lara-Villoslada F. Human milk probiotic *Lactobacillus fermentum* CECT5716 reduces the incidence of gastrointestinal and upper respiratory tract infections in infants. JPNG. Ene 2012. Vol. 54(1):55 – 61 doi: 10.1097/MPG.0b013e3182333f18

Pérez-Cano FJ, Dong H, Yaqoob P. In vitro immunomodulatory activity of *Lactobacillus fermentum* CECT5716 and *Lactobacillus salivarius* CECT5713: two probiotics strains isolated from human breast milk. Immunobiology. Dic 2010. 215(12): 996 – 1004 doi: <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2010.01.004>

Arroyo R, Martín V, Maldonado A, Jiménez E, Fernández L, Rodríguez JM. Treatment of infectious mastitis during lactation: antibiotics versus oral administration of lactobacilli isolated from breast milk. Clinical infectious diseases. Jun 2010. 50(12): 1551 – 1558 doi: <https://doi.org/10.1086/652763>

Siriken B, Bayram I, Onol AG. Effects of probiotics: alone and in a mixture of Biosacc plus Zinc bacitracin on the caecal microflora of Japanese quail. Research in Veterinary Science. Ago 2003. 75(1): 9 – 14 doi: [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(03\)00036-5](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(03)00036-5)

Ribeiro AML, Vogt LK, Canal CW, Cardosom. RI, Labres RV, Streck AF, Bessa MC. Effects of prebiotics and probiotics on the colonization and immune response of broiler chickens challenged with *Salmonella enteritidis*. Brazilian Journal of Poultry Science. Jul – Sep 2007. vol 9 (3): 193 – 200 doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-635X2007000300009>

Vineetha PG, Tomar S, Sacena VK, Kapgate M, Suvarna A, Adil K. Effect of laboratory-isolated *Lactobacillus plantarum* LGFCP4 from gastrointestinal tract of guinea fowl on growth performance, carcass traits, intestinal histomorphometry and gastrointestinal

microflora population in broiler chicken. Journal of animal physiology and animal nutrition. Ene 2017. Jan 7: 1 - 9 doi: 10.1111/jpn.12613

Estrada-Maldonado AC, Gutiérrez-Ramírez LA, Montoya-Campuzano OI. Evaluación *in vitro* del efecto bactericida de cepas nativas de *Lactobacillus* sp contra *Salmonella* sp y *Escherichia coli*. Revista Facultad Nacional de Agronomía. 2015. 58(1): 2602 – 2609 doi: <http://www.bdigital.unal.edu.co/24152/>

FIGURAS

FIGURA 1. A) Sistema de identificación API 50 CHL (bioMerieux^R S.A.) posterior a la inoculación de una muestra sospechosa a *Lactobacillus* antes de la incubación. **B)** Muestra de *Amazona autumnalis* posterior a la incubación en el sistema API 50 CHL (bioMerieux^R S.A.), un resultado positivo corresponde a la acidificación del indicador de púrpura de bromocresol cambiando a amarillo. En el caso de la esculina (tubo número 25) el cambio de color púrpura es a negro en casos positivos.

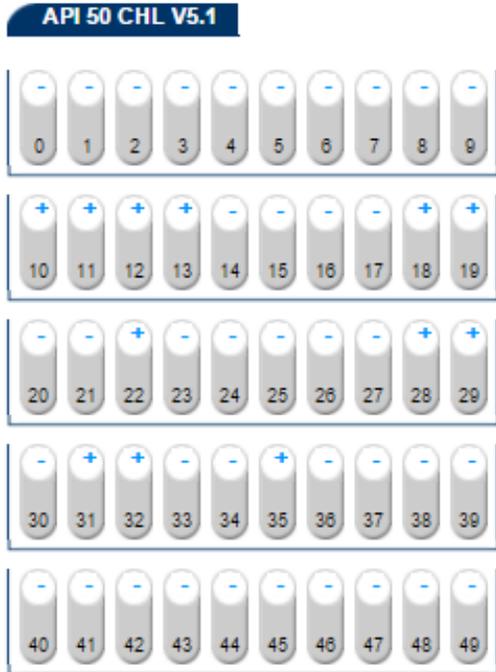


A)



B)

FIGURA 2. Hoja de registro de la página apiweb™ para la identificación de las muestras sospechosas a lactobacilos. Resultado negativo (-) indica que al carbohidrato dentro del tubo sistema API 50 CHL (bioMerieux^R S.A.) no fue acidificado, mientras que el resultado positivo (+) indica el cambio de color púrpura a amarillo y la presencia de fermentación del carbohidrato de cada tubo. La interpretación de los resultados e identificación de la muestra lo realiza el software indicando la especie a la que corresponde cada muestra.



REFERENCIA: Muestra Amazonas autumnalis
 FECHA: 11 Sep 2016
 COMENTARIO:

EXCELENTE IDENTIFICACION

Galería	API 50 CHL V5.1						
Perfil	-----++++-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----						
Nota							
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				
Lactobacillus salivarius	99.9	0.89	MEL	85%			
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra				
Leuconostoc lactis	0.1	0.48	MAN	5%	SOR	0%	

CUADROS

CUADRO 1. Número de colonias sospechosas a *Lactobacillus* obtenidas de cada lavado de ingluvis de cada ave con identificación del género y especie (método API 50CHL) y la descripción y características de cada colonia.

Identificación de la muestra.	Descripción de las colonias.	Género y especie (resultado API 50CHL)	Crecimiento de diferentes colonias por muestra.
Ara macao	<ul style="list-style-type: none"> • colonias blancas, convexas. • -3 mm • acilos cortos Gram + • xidasa negativa • atalasa negativa 	<i>Lactobacillus salivarius</i>	1
Ara ararauna	<ul style="list-style-type: none"> • colonias blancas brillosas, convexas. • mm • acilos Gram + • xidasa negativa • atalasa negativa 	<i>Lactobacillus paracasei paracasei</i>	2
	<ul style="list-style-type: none"> • colonias blancas, convexas. • -3 mm • acilos Gram + • xidasa negativa • atalasa negativa 	<i>Lactobacillus paracasei paracasei</i>	
Amazona autumnalis	<ul style="list-style-type: none"> • colonias blancas, convexas • -3 mm • acilos cortos Gram + • xidasa negativa 	<i>Lactobacillus salivarius</i>	1

	atalasa negativa		
Amazona viridigenalis	<ul style="list-style-type: none"> • ononias blancas, convexas. • -5 mm • acilos Gram + • xidasa negativa • atalasa negativa 	<i>Lactobacillus fermentum</i>	4
	<ul style="list-style-type: none"> • ononias blancas, convexas • -3 mm • acilos cortos Gram + • xidasa negativa • atalasa negativa 	<i>Lactobacillus salivarius</i>	
	<ul style="list-style-type: none"> • ononias blancas, planas. • -3 mm • acilos Gram + • xidasa negativa • atalasa negativa 	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	
	<ul style="list-style-type: none"> • ononias blancas, convexas brillosas. • -5 mm • acilos Gram + • xidasa negativa • atalasa negativa 	<i>Lactobacillus buchneri</i>	
Aratinga mitrata	<ul style="list-style-type: none"> • ononias blancas brillosas, convexas. • mm • acilos Gram + • xidasa negativa • atalasa negativa 	<i>Lactobacillus paracasei paracasei</i>	2

	<ul style="list-style-type: none"> • olonias blancas, planas. • -3 mm • acilos Gram + • xidasa negativa • atalasa negativa 	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	
<i>Pionus senilis</i>	<ul style="list-style-type: none"> • olonias blancas, convexas. • -5 mm • acilos Gram + • xidasa negativa • atalasa negativa 	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1
<i>Psittacus erithacus</i>	<ul style="list-style-type: none"> • olonias blancas brillosas, convexas. • mm • acilos Gram + • xidasa negativa • atalasa negativa 	<i>Lactobacillus paracasei paracasei</i>	2
	<ul style="list-style-type: none"> • olonias blancas, convexas. • -5 mm • acilos Gram + • xidasa negativa • atalasa negativa 	<i>Lactobacillus brevis</i>	
<i>Eolophus roseicapilla</i>	<ul style="list-style-type: none"> • olonias blancas brillosas, convexas. • mm • acilos Gram + • xidasa negativa • atalasa negativa 	<i>Lactobacillus paracasei paracasei</i>	2

	<ul style="list-style-type: none"> • colonias blancas, convexas • -3 mm • acilos cortos Gram + • oxidasa negativa • catalasa negativa 	<i>Lactobacillus salivarius</i>	
Cacatua alba	<ul style="list-style-type: none"> • colonias blancas brillosas, convexas. • mm • acilos Gram + • oxidasa negativa • catalasa negativa 	<i>Lactobacillus paracasei paracasei</i>	3
	<ul style="list-style-type: none"> • colonias blancas, convexas. • -5 mm • acilos Gram + • oxidasa negativa • catalasa negativa 	<i>Lactobacillus brevis</i>	
	<ul style="list-style-type: none"> • colonias blancas, planas con borde ondulado. • -5 mm • acilos cortos Gram + • oxidasa negativa • catalasa negativa 	<i>Lactobacillus pentosus</i>	

CUADRO 2 Frecuencia en que fueron aisladas cada especie de *Lactobacillus*, así como las especies de aves psitácidas de donde fue aislada cada bacteria a partir de lavados de ingluvis.

<i>Lactobacillus</i> sp	Número de veces que fue aislado el microorganismo.	Especies de psitácidas donde se aislaron.
<i>L. salivarius</i>	4	<i>Eolophus roseicapilla</i> , <i>Amazona viridigenalis</i> , <i>Amazona autumnalis</i> , <i>Ara macao</i>
<i>L. fermentum</i>	1	<i>Amazona viridigenalis</i> .
<i>L. acidophilus</i>	2	<i>Aratinga mitrata</i> , <i>Amazona viridigenalis</i> .
<i>L. buchneri</i>	1	<i>Amazona viridigenalis</i> .
<i>L. paracasei paracasei</i>	6	<i>Cacatua alba</i> , <i>Eolophus roseicapilla</i> , <i>Psittacus erithacus</i> , <i>Aratinga mitrata</i> , <i>Ara ararauna</i> ,
<i>L. brevis</i>	2	<i>Cacatua alba</i> , <i>Psittacus erithacus</i> ,
<i>L. pentosus</i>	1	<i>Cacatua alba</i> .
<i>L. plantarum</i>	1	<i>Pionus senilis</i> .

CUADRO 3. Descripción de otras especies de bacterias ácido lácticas aisladas del ingluvis de los psitácidos hospitalizados que no pertenecen al género *Lactobacillus* sp que fueron aisladas en este estudio.

Género y especie	Muestras donde se aisló.	Descripción de las colonias.
<i>Weissella confusa</i>	<i>Ara ararauna</i> , <i>Psittacus erithacus</i> .	<ul style="list-style-type: none"> • colonias color mate, convexas. • -5 mm • acilos cortos Gram + • oxidasa negativa • catalasa negativa
<i>Leuconostoc mesenteroides mesenteroides</i>	<i>Ara macao</i> .	<ul style="list-style-type: none"> • colonias no pigmentadas, planas • 5 mm • acilos diploides Gram + • oxidasa negativa • catalasa negativa

CUADRO 4. Mención de algunos de los efectos de bacterias (aisladas en mamíferos y aves domésticas) similares a las especies aisladas en este proyecto.

<i>Lactobacillus</i> sp	Especies de donde fueron aislados.	Efectos reportados.
<i>L. paracasei paracasei</i>	Humanos.	Reducción de tiempo a la duración del resfriado común en las personas que consumían los probióticos, además de disminuir el uso de antibióticos y cuidados en el grupo con probióticos (Jespersen et al., 2015).
<i>L. fermentum</i>	Humanos.	Reducción en la incidencia de infecciones gastrointestinales y respiratorias en niños

(Maldonado *et al.*, 2012).

Efecto potenciador de las células NK (y regulan los activadores de CD4+ y CD8+, regulan a las células T (Pérez-Cano *et al.*, 2010, Maldonado *et al.*, 2012).

Mejor efecto bactericida en mastitis por estafilococos versus el uso de antibióticos, amoxicilina-ácido clavulánico, amoxicilina, cotrimoxazol, cloxacilina y eritromicina (Arroyo *et al.*, 2010).

<i>L. acidophilus</i>	Codornices y gallinas.	En las aves de corral varias investigaciones han enfatizado el potencial positivo de los probióticos en el rendimiento o en los parámetros del estado inmunitario (Siriken <i>et al.</i> , 2003; Ribeiro <i>et al.</i> , 2007).
	Gallinas de Guinea	Mejoras ligeramente significativas sobre los perfiles de crecimiento, características de la canal y sobre la histomorfometría del intestino versus el grupo bajo antibióticos (Vineetha <i>et al.</i> , 2016).
	Gallinas	Disminución del conteo de colonias de <i>Escherichia coli</i> en heces de Ninfas (<i>Nymphicus hollandicus</i>) recién nacidas (Tully <i>et al.</i> , 1998).
<i>L. salivarius</i>	Productos comerciales de aves.	Efecto bactericida en la evaluación de bacterias Gram negativas en las heces de Guacamayas Spix (<i>Cyanopsitta spixii</i>), Guacamayo añil (<i>Anodorhynchus leari</i>) y guacamayas Jacinto (<i>Anodorhynchus hyacinthinus</i>) (Wyss <i>et al.</i> , 2009).
	Humano.	Efecto potenciador sobre el sistema inmune, teniendo un impacto en la inmunidad innata y adquirida (Pérez-Cano <i>et al.</i> , 2010, Maldonado <i>et al.</i> , 2012). Mejor efecto bactericida en mastitis por estafilococos versus el uso de antibióticos, amoxicilina-ácido clavulánico, amoxicilina,

		cotrimoxazol, cloxacicina y eritromicina (Arroyo et al., 2010).
<i>L. brevis</i>	<i>In vitro</i>	Efecto bactericida sobre el crecimiento de <i>Salmonella</i> y <i>Escherichia coli</i> (Estrada-Maldonado et al., 2015).
<i>L. pentosus</i>	Pollo de engorda.	Disminución en el consumo de alimento y la conversión alimenticia, hubo una disminución de las bacterias potencialmente patógenas, <i>Escherichia coli</i> , y bacterias del género <i>Enterobacter</i> (Altaher et al., 2015).
<i>L. plantarum</i>	<i>In vitro</i>	Efecto bactericida sobre el crecimiento de <i>Salmonella</i> y <i>Escherichia coli</i> (Estrada-Maldonado et al., 2015).
	Gallinas de Guinea	Mejoras ligeramente significativas sobre los perfiles de crecimiento, características de la canal y sobre la histomorfometría del intestino versus el grupo bajo antibióticos (Vineetha et al., 2016).