



**Facultad de Ciencias Veterinarias y Biológicas**

**Carrera Medicina Veterinaria y Zootecnia**

**Determinación de la presencia de enterobacterias con  
resistencia antibiótica de importancia en salud pública en  
Psitácidos (*Pyrrhura picta*, *Primolius couloni*, *Pionus  
menstruus* y *Pionus chalcopterus*) mantenidos en cautiverio en  
el Parque Zoológico Huachipa, Perú.**

**Tesis para Optar el Grado Académico de Médico Veterinario Zootecnista**

**Maria Fernanda Jordan Romero**

**Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia**

**LIMA – PERÚ**

**2017**

INDICE	
RESUMEN.....	5
ABSTRACT.....	6
DEDICATORIA .....	7
AGRADECIMIENTOS.....	8
I. INTRODUCCIÓN.....	9
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	10
1. ORDEN PSITACIFORMES.....	10
1.1 GENERALIDADES .....	10
1.2. CONSERVACIÓN.....	12
1.3. ALIMENTACIÓN .....	13
2. ANATOMIA Y FISILOGIA DIGESTIVA DE PSITACIFORMES.....	14
3. EL SISTEMA INMUNE CON RELACIÓN AL SISTEMA DIGESTIVO DE LAS AVES .....	17
4. IMPACTO DEL TRÁFICO ILEGAL DE PSITACIFORMES EN LA SALUD PÚBLICA.....	19
5. FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE.....	21
5.1 <i>Escherichia coli</i> .....	22
5.2 <i>Salmonella spp</i> .....	24
5.3 <i>Klebsiella spp</i> .....	25
5.4 <i>Enterobacter spp</i> .....	26
5.5 <i>Citrobacter spp</i> .....	26
5.6. <i>Providencia spp</i> .....	27
6. RESISTENCIA ANTIBACTERIANA DE LA FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE	28
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
1. POBLACIÓN Y MUESTRA .....	29
2. MÉTODO DE CAPTURA FÍSICA.....	29
3. TOMA DE MUESTRA.....	30
IV. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS .....	30
1. SEMBRADO .....	30
2. IDENTIFICACIÓN .....	31
3. PRUEBAS BIOQUÍMICAS .....	31

4. PERFIL DE RESISTENCIA ANTIBIÓTICA.....	32
V. RESULTADOS.....	32
1. AISLAMIENTO BACTERIANO.....	32
2. PRUEBAS BIOQUÍMICAS.....	34
3. DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA ANTIBIÓTICA.....	35
VI. DISCUSIÓN.....	36
VII. CONCLUSIONES.....	41
VIII. RECOMENDACIONES.....	41
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42
X. ANEXOS.....	50

## RESUMEN

La Orden Psitaciformes es considerada una de las Órdenes más afectadas dentro del comercio ilegal, lo que ocasiona un estrecho contacto con el hombre aumentando el riesgo de apareamiento de enfermedades zoonóticas, y este riesgo aumenta considerando que los individuos provenientes del comercio ilegal se encuentran generalmente inmunosuprimidos debido a las pobres condiciones en las que son mantenidos. La principal causa de enfermedades zoonóticas producidas en estas circunstancias está asociada a bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* debido principalmente a su gran capacidad de infección. Considerando lo anterior, el objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* de importancia en la salud pública con resistencia antibiótica de aislados cloacales en cuatro especies de psitácidos: perico de cabeza roja *Pyrrhura picta*, guacamayito de cabeza azul *Primolius couloni*, loro de cabeza azul *Pionus menstruus* y loro de ala bronceada *Pionus chalcopterus*. Las muestras fueron colectadas de individuos aparentemente sanos y mantenidos en cautiverio en el Parque Zoológico Huachipa. En los resultados se observó que un 48.5% (18/35) de psitácidos fueron positivos a presencia de Enterobacterias, siendo la especie *Primolius couloni* la que presentó mayor presencia con valores positivos de 77.8% (14/18). Las Enterobacterias encontradas fueron *E. coli* 27.78% (5/18), *Providencia* 22.22% (4/18) *Enterobacter* 22.22 % (4/18), *Klebsiella* 22.22% (4/18), *Citrobacter* 5.88% (1/18), *Salmonella* 0% (0/35); en la evaluación del perfil de resistencia antibiótica se obtuvieron los siguiente resultados: Penicilina 100% (11/11), Ceftiofur 18.18% (2/11), Ciprofloxacina 9.09 % (1/11), Tetraciclina 36.36% (4/11), Gentamicina 9.09% (1/11), Cloranfenicol 9.09% (1/11), Cefuroxima 9.09% (1/11), Ácido Nalidíxico 0% (0/11), Oxitetraciclina 9.09% (1/11), Enrofloxacin 45.45% (5/11) y Amikacina 27.27% (3/11). El estudio demuestra que existen bacterias de la Familia *Enterobacteriaceae* con resistencia antibiótica de importancia en la salud pública.

## ABSTRACT

Psittaciformes are the most affected Order in illegal trade. Thousands of them are reported every year as ornamental birds, having close contact with humans thus becoming potential agents of zoonotic diseases, as the majority of them are immunosuppressed because of having poor captive conditions. The principal cause of zoonotic diseases under this circumstance is the Enterobacteriaceae family, as this group has an enormous infection capacity. The aim of this study is to determine the presence of public health importance *Enterobacteriaceae* with antibiotic resistance in cloacal isolation in four species of amazon psittacids: *Pyrrhura picta*, *Primolius couloni*, *Pionus menstruus* and *Pionus chalcopterus* kept in captivity in Lima – Perú. The samples were taken of individuals apparently healthy. As results, the 48.5% (18/35) were positive to *Enterobacteriaceae* family. the 82.4% (14/18) of them were *Primolius couloni*. The Enterobacteries founded were: *E. coli* 27.78% (5/18), *Providencia* 22.22% (4/18) *Enterobacter* 22.22 % (4/18), *Klebsiella* 22.22% (4/18), *Citrobacter* 5.88% (1/18), *Salmonella* 0% (0/35). Also, these Enterobacteries were processed to identify the antibiotic resistance and the results were: Peniciline 100% (11/11), Cefotiofur 18.18% (2/11), Ciprofloxacin 9.09 % (1/11), Tetraciclina 36.36% (4/11), Gentamicina 9.09% (1/11), Cloranfenicol 9.09% (1/11), Cefuroxime 9.09% (1/11), Nalidixic Acid 0% (0/11), Oxitetraciclina 9.09% (1/11), Enrofloxacin 45.45% (5/11) and amikacina 27.27% (3/11). This study shows the presence of enterobacteries with public health importance that also have antibiotic resistance.

## DEDICATORIA

Dedicó esta tesis a mi abuela Julia Torres Lopez (Q.E.P.D), que desde pequeña me enseñó a ser una mejor persona e inculcó el amor y respeto hacia los animales.

A Juan José Jordan de Vivero, mi padre (Q.E.P.D), que desde antes que yo llegaré a este mundo veló y se preocupó siempre por mi bienestar.

## AGRADECIMIENTOS

A Julia Rosa Romero Torres, mi madre, por su amor incondicional, fortaleza y apoyo en todo momento

A mi Director Gianmarco Rojas Moreno por su profesionalismo, paciencia, amistad y la motivación brindada para alcanzar metas futuras.

A Siever Morales Cauti y Lizzie Ortiz Cam que fueron unos excelentes acesores y amigos que me apoyaron dentro y fuera del trabajo.

## I. INTRODUCCIÓN

La Orden psitaciformes está compuesta por aproximadamente 350 especies de aves, conformada por 3 familias dentro de las cuales existen entre 5 a 8 subfamilias y alrededor de 85 géneros clasificados así principalmente por su distribución, tamaño y características fenotípicas. Dentro de este Orden se encuentra la familia *Psittacidae*, estas aves son muy sociales y coloridas, por esta razón la mayoría de las especies de esta familia se encuentran amenazadas debido al tráfico ilegal.

Los animales procedentes del tráfico ilegal son transportados y mantenidos en pésimas condiciones, lo que les genera una inmunosupresión, y cuando éstas son adquiridas en el mercado ilegal se convierten en un foco de infección debido a que las aves pueden transportar y diseminar bacterias patógenas hacia los animales domésticos y personas que entran en contacto directo o indirecto con ellas.

La principal causa de enfermedades zoonóticas producidas en estas circunstancias son provocadas por bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* debido a que estos patógenos presentan una gran capacidad de infección. En muchos casos los Psitácidos como todas las aves no presentan signos clínicos aparentes de enfermedad; sin embargo, cuando las presentan, muchas son medicadas de forma inadecuada lo que genera resistencia antibiótica en agentes potenciales de causar enfermedades de importancia en la salud pública.

No existen estudios específicos sobre la presencia de *Enterobacteriaceae* en *Pyrrhura picta*, *Primolius couloni*, *Pionus menstruus* y *Pionus chalcopterus*, por lo que el objetivo principal del presente trabajo es determinar la presencia de enterobacterias con resistencia antibiótica para penicilina, ceftiofur ciprofloxacina, tetraciclina, gentamicina, cloranfenicol, cefuroxime, ácido nalidíxico, oxitetraciclina, enrofloxacin y amikacina, los cuales han sido previamente utilizados convencionalmente en otras especies.

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 1. ORDEN PSITACIFORMES

#### 1.1 GENERALIDADES

La Orden Psitaciformes está conformada por tres grandes familias: Loridae, representada por los loris; Cacatuidae, representada por las cacatúas; Psittacidae compuesta por loros, guacamayos, periquitos, amazonas, aratingas. Otros los clasifican en dos familias: Psittacidae e Cacatuidae. Existen cerca de 85 géneros y 332 especies de psitácidos, los cuales 148 pertenecen al Nuevo Mundo y 184 al Viejo Mundo (Neri *et al*, 2007).

Esta Orden presenta una gran variedad de tamaño, coloración y peso. Son fáciles de reconocer ya que poseen características marcadas como pico corto, alto, curvado de base larga y redondeada. La mandíbula está articulada al cráneo, esta articulación le permite partir duras semillas. Otra característica es que tienen patas escamosas cortas con cuatro dedos (dos adelante y dos atrás); además poseen una glándula uropigeana la cual tiende a atrofiarse por completo en psitácidos neotropicales, como los géneros *Amazona*, *Pionus* e *Brotogeris* (Costa, 2010).

Las aves del género *Pionus* son loros medianos con colas cortas y cuadradas que habitan ampliamente en el dosel de bosques húmedos y montañosos, distribuyéndose ampliamente por Sudamérica (Recalde, 2013). Dentro de este género se encuentran las especies *Pionus menstruus* y *Pionus chalcopterus*. *Pionus menstruus* se distingue de otras especies por tener la cabeza, cuello y pecho de color azul; presenta coloración rojiza en la barbilla y en la base ventral de la cola, base del pico y cuello salpicado de rosa. El Hombro y extremo del ala verde es de coloración olivo con borde amarillo y la cola es verde con la punta azul (Padilla, 2012). *Pionus chalcopterus* es un ave de tamaño medio, robusto.

Su plumaje es oscuro, con un parche pálido en la zona de la garganta. Presenta un pico pálido. Las plumas de las alas son de color azul ultramarino y café. (Recalde, 2013).

Dentro de los Guacamayos los del género *Primolius* son considerados de longitud media de unos 40 cm, lo que convierte en una especie del grupo de guacamayos menores frente a los guacamayos grandes (*Ara* y *Anodorhynchus*). Dentro del género *Primolius* se encuentra *Primolius couloni* que como todos los guacamayos tienen una cola larga y puntiaguda, y un pico grande y fuerte de color negro. Presenta un plumaje de cobertura de tonalidad verdosa u olivácea, y con plumas de tono azulado en la cabeza, mejillas, garganta; las plumas de las alas cercanas al pecho y vientre. La parte superior de la cola tiene una base marrón rojiza, una pequeña mancha verde y termina en tono azul, sin embargo la parte inferior de la cola y de las alas es de un tono verdoso-amarillento similar al de otros guacamayos menores (SERNANP, 2010).

Como se mencionó el género *Pyrrhura* comprende a psitácidos pequeños, dentro de este género se encuentra el *Pyrrhura picta* que presentan una cabeza de color marrón oscuro con una banda azul-turquesa en la frente, las mejillas son de color rojizo–marrón la coloración de la garganta, pecho y cuello son de color marrón oscuro, la plumas primarias son de coloración verde brillante, en el pecho presenta manchas rojas y en el vientre presenta una coloración marrón característico de los *Pyrrhuras* (Loaiza *et al.*, 2005).

Para este estudio se realiza tomando muestras cloacales de algunos psitácidos mantenidos en cautiverio del Parque Zoológico Huachipa, los cuales son *Pyrrhura picta*, *Pionus menstruus*, *Pionus chalcopterus* y *Primolius couloni*.

## 1.2. SERVACIÓN

La familia Psittacidae es uno de los grupos de aves silvestres más amenazadas en el mundo. La convención internacional sobre comercio internacional de especies de fauna y flora en peligro de extinción (CITES, 2014) reportó que en el tráfico internacional de psittaciformes es de miles de aves por año y además que actualmente existe cerca de 90 especies de psittácidos en riesgo de extinción. Esta situación es especialmente crítica en la región neotropical, donde casi el 31% de las especies de psittácidos está en riesgo de extinción global (SEMARNAT, 2009). Es conocido que la demanda global para este grupo de aves representa cientos de miles ejemplares silvestres capturados anualmente, con un valor monetario que hace muy atractivo su comercio, por lo que se puede asegurar que estas aves han estado sujetos a mayor explotación que cualquier otro animal silvestres (Alvadaro, 2008).

Por años estas aves se han encontrado en peligro debido a su pequeño tamaño (lo que facilita su transporte clandestino), su coloración, su facilidad de alimentación y su habilidad para vocalizar. Estas especies son consideradas idóneas para ser utilizadas como mascotas, millones de psittácidos neotropicales han sido exportados legalmente durante los últimos años; en Perú, millones de animales vivos fueron legalmente exportados desde Iquitos entre 1965 y 1973; un 39% de estas exportaciones correspondía a psittácidos y un 4.9% a otras aves ornamentales estas cifras oficiales representan sólo una fracción del número real de psittácidos extraídos de sus hábitats naturales, ya que no contabilizan las aves comercializadas ilegalmente, las fallecidas durante el transporte, ni las que son comercializadas en el mercado local o nacional (González, 1999).

El comercio ilícito de los psittácidos ha influenciado negativamente sobre sus poblaciones naturales, reduciendo el número de individuos y la diversidad genética poblacional. Ocasionando la desaparición de gran número de especies silvestres, esto ha llevado al desarrollo de la medicina de la conservación, área del conocimiento que tiene como objetivos mejorar las posibilidades de

supervivencia y conservación de las especies amenazadas a través de la implementación de planes de manejo basados en evaluaciones periódicas del estado de salud de las poblaciones o planes de intervención, en casos de crisis o brotes de enfermedades (Alvarado, 2008).

### 1.3. ALIMENTACIÓN

La alimentación de la Orden Psitaciformes en vida libre está compuesta principalmente por semillas, frutos maduros e inmaduros, y flores, adicionalmente suplementan su dieta con corteza y otros insumos. Brightsmith., *et al* (2008) en un estudio realizado en Tambopata Research Center, Madre de Dios – Perú, demostraron que estas aves consumen arcilla de las colpas porque es una importante fuente de sodio y además las protege de toxinas presentes en su dieta.

A diferencia de muchas aves, los psitácidos del Nuevo Mundo parecen no ser capaces de modificar su dieta por lo que están íntimamente ligados a patrones de floración y producción de frutos (Brightsmith *et al.*, 2008). Esto ocasiona que las aves mantenidas en cautiverio son alimentadas sin valorar realmente sus preferencias alimentarias y necesidades nutricionales relacionadas con cada especie, creándose esquemas generales que no comparten las realidades objetivas para una buena alimentación. Estos desbalances en la alimentación afectarán a la salud de las aves, alterándose las manifestaciones fisiológicas, la reproducción, crecimiento de las crías, el cambio de plumas y la resistencia a las enfermedades (Soto y Bert, 2011).

Los psitácidos como toda las aves en condiciones de estrés fisiológico deben adaptarse para así garantizar su supervivencia, generalmente estas aves mantenidas cautiverio enfrentan un constante estrés lo que ocasionará una reducción de energía. Durante la fase inicial de estrés los ajustes incluyen una reducción en el consumo de alimento. Los carbohidratos de los músculos y el hígado son utilizados como forma inmediata de energía, los cambios metabólicos

mediados por citosinas, movilizan glucosa desde los tejidos periféricos hacia los sitios de generación de la respuesta inmune. En cuanto a las proteínas éstas son hidrolizadas para suministrar aminoácidos, que serán desaminados para la producción de glucosa vía gluconeogénesis y así suplir las necesidades energéticas del sistema inmune activado (Tavernari *et al.*, 2008).

Un psitácido mantenido en cautiverio se debe conservar en buen estado nutricional lo que significa que la dieta debe abarcar las necesidades de aminoácidos, minerales y vitaminas que requiere durante el día. Los requerimientos diarios de un psitácido mantenido en cautiverio es distinta que para un ave de vida libre porque éstas últimas invierten un 50% de su tiempo en la búsqueda de alimento, además suelen pasar de 4 a 6 horas diarias forrajeando, esto demuestra que cuando estas aves son mantenidas en cautiverio gastan menos energía por que no realizan ninguna de las actividades mencionadas (Recalde, 2013).

## 2. ANATOMIA Y FISILOGIA DIGESTIVA DE PSITACIFORMES

El sistema digestivo tiene como principal objetivo la degradación y absorción de nutrientes necesarios para el mantenimiento, crecimiento y reproducción del organismo. Este sistema se caracteriza por su ambiente dinámico, constituido de interacciones complejas entre el contenido presente en el lumen intestinal, microorganismos y las células epiteliales de absorción, las cuales proporcionan protección física y de defensa inmune (Tavernari *et al.*, 2008).

El sistema digestivo de las aves posee un tracto digestivo corto, de poco volumen, lo que les permite pesar menos para poder volar. Por esta razón las aves ingieren cantidades pequeñas pero frecuentes de alimento y extraen su energía rápidamente para mantener su alta tasa metabólica (O'Malley, 2005).

El tracto digestivo está compuesto en varias porciones, la primera de estas es la boca que en el caso de las aves está formado por un pico fuerte que carece de dientes y labios. Las aves de la Orden Psitaciformes trituran el alimento antes de

ingerirlo, para esto se desarrolló una estructura denominada “Prokinesis” en la cual la mandíbula superior está articulada al cráneo en forma de bisagra aumentando la apertura del pico, esta flexión es la responsable de la fuerza causada durante el forrajeo, trituración de semillas y actividades de interacción social. A diferencia de otras aves los psitácidos poseen la lengua completamente distinta ya que esta está compuesta de músculos independientes del aparato hioideo, por eso posee una mayor flexibilidad requerida para la manipulación de semillas (Noriega, 2007; Ramos 2014).

En la segunda porción está el esófago, este órgano tiene una pared fina y que posee glándulas mucosas para proporcionar lubricación durante el paso de los alimentos y así protegerlo de daños mecánicos. Una vez que el alimento pasa por el esófago se almacena en el buche que se encuentra en la porción craneal del esófago antes de la entrada torácica y se caracteriza por no tener glándulas mucosas. Este órgano cumple las funciones de almacenamiento y ablandamiento temporal de grandes cantidades de comida esto es importante porque así pueden almacenar alimento durante la noche, para proporcionar gradualmente nutrientes durante este período. Asimismo este órgano desempeña un papel importante en la nutrición de las crías permitiendo la regurgitación de alimento (Ramos, 2014).

A diferencia de otras clases de animales, en las aves, el esófago y el estómago no están divididos por un esfínter. El estómago en las Psitaciformes se caracteriza por la ausencia de pliegues longitudinales y por la división que forma el istmo, generando el proventrículo y el ventrículo. En el proventrículo ocurre la producción de jugos gástricos a través de dos tipos de células: las epiteliales que producen moco, las cuales producen una reacción alcalina para proteger el estómago de las enzimas proteolíticas y ácidas; y las células oxinticopepticas que se encargan de la producción de pepsinógeno y ácido clorhídrico, las cuales tienen como función la digestión del alimento al hidrolizar las proteínas y polisacáridos para su digestión; en cambio, el ventrículo se encuentra poco desarrollado en tamaño pero posee una gran musculatura lo que facilita la

digestión. Por esta razón, los psitácidos no necesitan ingerir piedras para triturar alimentos a diferencia de otras aves granívoras.

Después del estómago sigue el intestino, el cual posee tres tipos de células epiteliales: las células principales caracterizadas por su capacidad de absorción; las células caliciformes que secretan moco y las células endocrinas, presentes en el estómago y páncreas (Recalde, 2013). El intestino está formado por Intestino Delgado e Intestino Grueso, el Intestino delgado está dividido en Duodeno, Yeyuno e Íleon, en este órgano se realiza la principal digestión química, ya que involucra enzimas de origen pancreático e intestinal como: aminopeptidasa, amilasa, maltosa y sacarosa. En el intestino delgado también se secretan hormonas que están involucradas en la regulación de las acciones gástricas e intestinales (Rebollar, 2002). La porción final del intestino es el intestino grueso, el cual es más corto que otros animales y tiene como función principal la absorción de agua y electrolitos. Algunos psitácidos presentan apenas un ciego vestigial pero la mayoría de las aves de esta Orden no presentan ciego (Recalde, 2013). El intestino termina en una cloaca, la cual está dividida por pliegues donde se almacenan y expulsan las heces (Clara, 2008).

Otro órgano digestivo es el Hígado, el cual está formado por dos lóbulos hepáticos, izquierdo y derecho, que están rodeando al corazón y están unidos cranealmente en el plano medio. La circulación portal está bien desarrollada y la vena cava caudal penetra por la parte dorsal del lóbulo derecho (O'Malley, 2007). Los psitácidos no presentan vesícula biliar, por lo que la bilis fluye del lóbulo derecho del hígado al duodeno por medio del ducto hepático entérico (Noriega, 2007; Recalde, 2013). También la enzima bilirrubino-reductasa está ausente en los psitácidos por lo que la biliverdina es el principal pigmento de la bilis.

En las aves, el páncreas funciona como en los mamíferos, esta glándula es exocrina y endocrina. Segrega amilasa, lipasa, tripsina y quimiotripsina, que digieren los carbohidratos, las grasas y las proteínas. Se producen bajo control hormonal secretina y de impulsos nerviosos vágales (O'Malley, 2007).

### 3. EL SISTEMA INMUNE CON RELACIÓN AL SISTEMA DIGESTIVO DE LAS AVES

El sistema inmune de las aves igual que el de mamíferos está compuesto por un sistema linfoide, la diferencia es que en las aves este sistema de defensa, está dividido en tres partes: la primera es el “pool” de células que tiene la capacidad de replicación y maduración de células sanguíneas que se originan en la embriogénesis en el saco vitelino y progresan hasta formarse el timo y la bursa de Fabricio, la segunda está compuesto por órganos linfoides primarios o centrales como el timo y la bursa de Fabricio. Por último la tercera parte del sistema linfoide está compuesto por órganos linfoides secundarios o periféricos los cuales están integrados de células T y B como el bazo, hígado, médula ósea y tejido linfoide en aparato respiratorio y digestivo (Closas, 1983).

El timo y la bursa de Fabricio son órganos linfoides característicos de las aves los cuales tienen funciones esenciales para una buena respuesta inmune. El timo es un órgano multilobulado el cual se atrofia con la madurez sexual pero sigue siendo funcional; es el encargado de la formación de linfocitos T, los cuales se dividen en dos grupos de acuerdo a su capacidad y a sus antígenos de superficie, los dos grupos son linfocitos Citotóxicos (CTL) y linfocitos T de ayuda (Th) (Robin, 2008). En cambio la Bursa de Fabricio se localiza en la región de la cloaca como un saco ciego, está a cargo de la respuesta humoral realiza procesos de diferenciación y maduración de los linfocitos B (Gómez, 2010).

El sistema inmune protege la superficie intestinal. Cerca del 75% de todas las células de defensa del organismo están localizadas en el intestino, en la forma de tejido linfoide (Springs, 2002). En el sistema digestivo se encuentra localizado un tejido difuso que se localiza en la submucosa y mucosa del intestino, que por su localización es llamado GALT (tejido linfoide asociado a intestino); Barshira et al., (2003) mencionó que en las aves el proceso de maduración del GALT ocurre

en dos fases: la colonización y maduración de linfocitos T se realiza primero en las Tonsilas Cecales (TC) y colon principalmente, y la segunda en el duodeno y yeyuno. En cambio la colonización de los linfocitos B se realiza en TC y diferentes sitios del tubo digestivo (Gómez, 2010).

Como en otros animales las aves tienen dos tipos de respuesta inmune: la adquirida y la innata. Donde la respuesta adquirida o aprendida se desarrolla mediante la exposición continua de antígenos por medio de anticuerpos y linfocitos T y B, la respuesta innata o natural esta respuesta está presente desde el nacimiento y es mediada por barreras naturales y/o células inflamatorias, células natural killer (Tizzard, 1997).

El mecanismo de respuesta innata a nivel del sistema digestivo aviar fue evaluado por Bar-shira y Fridman (2006), donde indicaron que la IL-1 y la IL 8 participan en la respuesta innata pero se encuentran en diferentes localizaciones. La IL-8 se encuentra principalmente en el colon, en cambio la IL 1 se encuentra en el colon, duodeno y ciego, al segundo día de vida aumenta su expresión al doble debido a que las aves inician su alimentación y con ello la colonización de bacterias comensales lo que induce el aumento de esta citosina inflamatoria (Bar-shira y Fridman, 2006).

La respuesta humoral es parte de la respuesta adquirida la cual se encarga de la producción de anticuerpos o también denominados inmunoglobulinas (Ig) los cuales se producen por la acción de un antígeno anteriormente presentado en el organismo, el cual fue reconocido por las células B de memoria (Tizzard, 1997).

Una de las diferencias inmunes de las aves con los mamíferos es la presencia de la IgY la cual es fundamental para la respuesta humoral frente a virus, bacterias y toxinas; como lo es también la IgA que se encuentra a nivel de las placas linfoides intestinales, a diferencia de otras inmunoglobulinas la IgA requiere de la IgM para su transformación y la elaboración de ella misma (Closas,

1983). Además los anticuerpos tipo IgA de la mucosa, representan una importante fracción de la barrera inmunológica del intestino, confiriendo protección al impedir la adherencia de bacterias o toxinas a las células del epitelio intestinal. Además eliminan bacterias debido a la acción citotóxica mediada por células dependientes de anticuerpos (Springs, 2002).

#### 4. IMPACTO DEL TRÁFICO ILEGAL DE PSITACIFORMES EN LA SALUD PÚBLICA

La Orden Psitaciformes cuenta con el mayor número de especies amenazadas a nivel mundial en comparación con cualquier otra Orden de aves, el tráfico ilegal ha impactado considerablemente a las poblaciones silvestres. (Bradshaw y Engebretson, 2006).

El tráfico y comercio ilegal de fauna silvestre es uno de los negocios más lucrativos en el mundo (CITES, 2014); los psitácidos son considerados animales muy inteligentes y con una gran capacidad de comunicación. Está es una de las causas del aumento del comercio ilegal de estas aves con el fin de mantenerlos como animales de compañía (Souza, 2011), el constante contacto entre los psitácidos y el hombre provoca el riesgo de transmisión de diferentes enfermedades de importancia zoonótica. Los animales procedentes del comercio ilegal normalmente se encuentran en malas condiciones, alojados en un recinto cerrado, hacinados y con suministro inadecuado de los alimentos, lo que resulta en una alta tasa de mortalidad. (Alvarado, 2008, Rey, 2014,).

En el caso que las aves sobrevivan a menudo desarrollan enfermedades causadas por agentes etiológicos que pueden estar presentes en forma subclínica y/o por bacterias Gram negativas oportunistas, siendo común encontrar *Eschericia coli*, *enterobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Proteus*, *pasteurella*, *Campylobacter* e *Chalmydophilia psittacia* (Costa, 2013). Además como demostró Xenoulis *et al.*, 2010, en la comparación de la microbiota

entérica de psitácidos silvestres y mantenidos en cautiverio a través de caracterización molecular, la microbiota de psitácidos mantenidos en cautiverio presentan más bacterias Gram negativas que las aves de vida libre, los autores sugirieron que esta diferencia se debe al propio mantenimiento en cautiverio y a los factores asociados a él como: ambiente, dieta, edad, genotipo y uso de antibióticos o probióticos.

De esta forma las personas que están en contacto con estas aves están más propensas a infectarse de algunos patógenos factibles de difundirse de la naturaleza provocando un alto potencial de enfermedades zoonóticas, principalmente afectando el sistema y que son provocadas por bacterias que generalmente están asociadas a complicaciones que llevan a enfermedades sistémicas. Estas enfermedades tienden a manifestarse en los seres humanos de forma clínica como; diarrea, dolor abdominal, fiebre, náuseas, vómitos en recién nacidos, geriátricos e inmunosuprimidos (Bowman and Jacobson, 1980, Souza, 2011).

Dentro de los patógenos que pueden difundir alto potencial de enfermedades zoonóticas se encuentran las cepas de la familia *Enterobacteriaceae* las cuales están asociadas a abscesos, neumonías, meningitis, septicemia, infecciones de heridas. Infecciones de vías urinarias e intestinales. Estas cepas se encuentran principalmente dentro de la flora intestinal, aunque también se pueden encontrar en otros sitios dentro del organismo pero con menor frecuencia. Del 50% de todos los aislamientos clínicos bacterianos, el 80 % pertenece de los bacilos gram negativos. El 50% de casos son septicemias y el 70% de infecciones urinarias (Alogorta y Schelotto, 2004).

En el 2005 el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) emitió una serie de recomendaciones junto con National Association of State Public Health Veterinarians para prevenir la transmisión de enfermedades zoonóticas; debido a que en el 2002 siete personas fueron infectadas con *E. coli* después de visitar una feria de agricultura en Ontario, Canadá, cuando se investigó la causa del brote se llegó a la conclusión que era procedente de un zoológico en Canadá.

Posteriormente en el 2010 se realizó un estudio de identificación de la microflora aparentemente sana en Psitácidos donde se obtuvo un 64.44 % de presencia de *E. coli* (Akhter *et al.*, 2010).

## 5. FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE

Las bacterias de la Familia *Enterobacteriaceae* están representadas por un grupo de bacilos, no formadores de esporas, Gram-negativos, anaeróbicos facultativos, fermentadores de glucosa u otros azúcares, generalmente capaces de producción de gas, catalasa positivo e oxidasa negativos (Vadillo, 2002).

Se han descrito al menos 27 géneros con más de 110 especies. La clasificación de estas bacterias se basa inicialmente en la determinación de diferentes enzimas involucradas en el metabolismo bacteriano. Por ello las pruebas bioquímicas consideran la presencia de dichos enzimas codificados por el material genético del cromosoma bacteriano, estas enzimas pueden ser evidenciadas en medios de cultivo específico que contienen los sustratos sobre los cuales ejercen su función metabólica, junto con un sistema indicado que pone de manifiesto la presencia de un metabolito específico (Rustrián *et al.*, 2013).

También para la clasificación de serotipos y biotipos de la familia *Enterobacteriaceae* se debe identificar los antígenos O, K y H, sin embargo la diferenciación serológica entre los géneros de esta familia resulta complicado por la reacción cruzada con grupos específicos de antígenos (lipopolisacaridos) (Gerlach, 1994).

Como ocurre con otras bacterias gram negativas, la membrana externa presenta una doble capa de fosfolípidos que incluyen lipopolisacáridos (LPS). El LPS tiene tres dominios principales: el esqueleto de lípido A, el oligosacárido fosforilados centrales y las cadenas laterales de oligosacárido de repetición. El lípido A, también conocido como endotoxina, es la parte biológicamente activa de la molécula que el huésped reconoce. El oligosacárido de repetición unido al LPS

se conoce como antígeno O. Este antígeno es la base para la clasificación de los serogrupos. Junto con otros factores, la presencia del antígeno O media la resistencia bacteriana al efecto bactericida del suero normal. Siendo capaces por tanto de sobrevivir más tiempo en sangre y causando infecciones hematógenas, diseminadas y más graves (Puerta y Rodríguez, 2010).

La patogenicidad de cada cepa bacteriana de la familia *Enterobacteriaceae* dependerá de la capacidad de colonización de cada bacteria como por ejemplo como la *Salmonella* y *Shigella* son patógenos que causan enfermedades de manera regular para el hombre y animales; sin embargo, también podemos encontrar microorganismos oportunistas como la *Escherichia coli* (Jawetz *et al.*, 1995).

En psitácidos se encuentran principalmente *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Proteus*, *Pasteruella*, *Campylobacter* e *Chalmydophila psittaci* (Costa, 2013). La *Escherichia coli* es la mayor enterobacteria encontrada en estas aves de cautiverio; esto ha sido demostrado por varios autores como Graham y Graham (1978) 5 %, Bowman and Jacobson (1980) 31%, Flammer and Drewes (1988) 40 %, Bangert *et al.*, (1988) 14% y Rojas M. J *et al.*, (2002) 43.68% de cepas de *E. coli* aisladas dentro de la familia psitacidae.

### 5.1 *Escherichia coli*

La *E. coli* se encuentra en un número muy elevado en el contenido intestinal y tiene la capacidad de suprimir el crecimiento de microorganismos proteolíticos debido a la liberación de bacteriocinas (colicinas), sustancias con acción bactericida y está relacionado con la síntesis de vitamina K. Son fermentadoras de lactosa, capaces de producir indol a partir de triptófano. Puede ser en capsulados, no encapsulados, móviles y no móviles (Gerlach, 1994, Puerta y Rodríguez, 2010).

De acuerdo a criterios clínicos y genéticos esta bacteria se clasifica en tres grupos principales: estirpe comensales, patogénica intestinal o diarregénicas (DEC) e patogénicas extraintestinal (EXPEC). Las DEC se clasifican en seis grupos: enterotoxigenica (ETC), enterohemorrágica (EHEC), enteroinvasiva (EIEC), enteropatógena (EPEC), enteroagregativa (EAEC) y adherencia difusa (DEAC) (Rodríguez y Angeles, 2002, Araujo 2015).

La EXPEC está relacionada a infecciones del tracto urinario, neumonías y también enfermedades sistémicas de las aves; dentro de la EXPEC se encuentra la *E. coli* patogénica aviar (EPA) la cual está relacionada a infecciones extraintestinales en aves, se encuentra en la microbiota intestinal y otras superficies de mucosas de aves domésticas y silvestres, esta colibacilosis engloba grandes número de signos existentes dentro de los cuales esta septicemia, celulitis, pericarditis, hepatitis, onfalitis, peritonitis , infección de tracto respiratorio. La EPA presenta mecanismos de virulencia multifactoriales, la adhesión de la bacteria a la superficie celular es la primera etapa para la instalación de un proceso infeccioso. Dentro de estos factores se encuentra la Fibrina tipo I, la cual está ampliamente relacionada a adhesión del tejido respiratorio superior; sin embargo fue inicialmente descritas en *E. coli* asociada a infecciones de tracto urinario de humanos pero también se encuentra en aves.

En humanos la EXPEC también causa infecciones de tracto urinario, septicemias, meningitis neonatal, infecciones intra-abdominales, neumonías, osteomielitis. Las infecciones causadas por EXPEC es una de las principales causas de mortalidad y movilidad, principalmente en pacientes inmunosuprimidos (Araujo, 2015).

Por otro lado, Saidenberg *et al;* (2012) Realizó un estudio en psitácidos y encontró EPEC la cual es considerada el primer reservorio en los humanos. El cuadro clínico de EPEC en psitácidos involucra diarrea, enteritis y en algunos casos septicemia.

## 5.2 *Salmonella spp.*

La salmonelosis es una enfermedad zoonótica de gran importancia mundial provocada por la bacteria del género *Salmonella*, los miembros de este género son capaces de infectar a gran variedad de mamíferos, aves y reptiles. Las bacterias de este género son consideradas patógenos primarios, los cuales dependiendo de la especie, tamaño del inoculo, factor de virulencia expresado por la cepa, hospedero involucrado, estado inmunológico del individuo e intervención médica puede ocasionar desde una infección gastrointestinal media a severa, hasta una infección sistémica que compromete la vida (Costa M, 2003; Figueroa y Verdugo, 2005).

La infección se inicia en el intestino delgado y en parte del colon, especialmente en la región cercana del recto; la entrada del microorganismo se da por la penetración en el enterocito. La *Salmonella* es la única especie que se conoce que tiene dos sistemas de secreción tipo III, codificados por dos islas de patogenicidad distintas SPI-1 y SPI-2. Cada uno de los sistemas tiene importancia patogénica, la SPI-1 está implicada con la penetración inicial de la bacteria, mientras que SPI-2 es importante para los siguientes estadios de la infección (Parra, 2000).

Dentro del género *salmonella* prácticamente una única especie tiene importancia en patología humana y animal, y una única subespecie llamada *Salmonella entérica* subespecie entérica, en el cual se encuentran diversos serotipos como *Salmonella Typhimorum*, responsable de la fiebre tifoidea. Esta infección se adquiere mediante la ingestión de alimento o agua contaminada, no existen reservorios animales y la principal fuente de infección son los portadores asintomáticos. El periodo de incubación es aproximadamente de 10 días generando un cuadro clínico caracterizado por fiebre, cefalea, malestar general, diarrea o constipación, en ocasiones puede haber exantema, desorientación y estado toxoinfeciosos; el cuadro clínico puede complicarse con perforación intestinal o choque séptico que pueden llevar a la muerte (Garcia *et al.*, 1992).

En el caso de las aves la tifoidea aviar es una enfermedad infecciosa causada por la *Salmonella entérica*, subespecie entérica, serovariedad *gallinarum*, la transmisión es horizontal y vertical con un periodo de incubación de 4 a 6 días, sin embargo la muerte puede ocurrir a las 48 horas siguiente de la infección. Se puede presentar de forma aguda o crónica capaz de afectar a aves de cualquier edad presentando diferentes manifestaciones como depresión, anorexia, deshidratación, dificultad respiratoria y diarrea. El hígado, bazo, corazón, pulmones, órganos reproductores y aparato digestivo suelen estar aumentados de tamaño, congestivos o presentar nódulos (Ferruzca, 2010).

Además en las aves podemos encontrar otras dos formas de presentación de este género como la *S. Pullorum* y las infecciones paratíficas provocadas por un grupo de diversos serovares de *Salmonella*, siendo también relacionados con infecciones de origen alimenticio en humanos (Costa M, 2003).

### 5.3 *Klebsiella spp.*

El género *Klebsiella* ocupa el segundo lugar en la incidencia, solo después de *E. coli*; este género se ha aislado a partir de material fecal del hombre y animales; también se ha ubicado en el medio ambiente, en el cual se halla en aguas superficiales y residuales, en el suelo, sobre las plantas, se ha aislado este género. La principal especie de este género es la *Klebsiella pneumoniae*, en los humanos portadores la *K. pneumoniae* se encuentra en las vías respiratorias superiores y en el tracto gastrointestinal (Izquierdo, 2003).

Estas bacterias usualmente desarrollan una cápsula que actúa como factor determinante en la capacidad de virulencia. Esta cápsula protege al organismo de la fagocitosis por parte de los polimorfonucleares y los factores bactericidas séricos. La primera etapa del proceso infeccioso es la adherencia del agente a las células del hospedero, en el género *klebsiella* se presenta dos tipos de *pilis* el tipo 1 y el tipo 3. El tipo 1 se asocia a la patogénesis de las infecciones del tracto urinario, adhiriéndose a las células del túbulo proximal. Su adherencia a las células del tracto respiratorio afecta la resistencia a la colonización, lo cual

conlleva a la proliferación de patógenos potenciales y puede conducir a una neumonía. El *pili* tipo 3 interviene en la adherencia de las células endoteliales y los epitelios del tracto respiratorio y urinario (López y Echeverri, 2009; Vuotto *et al.*, 2014).

Clásicamente la *K. pneumoniae* se asocia a la neumonía lobar con una importante tendencia a la formación de abscesos, cavitación, empiema y adherencias pleurales; todos los individuos con enfermedad pulmonar por *Klebsiella* presentan una bronconeumonía o una bronquitis. Además. En un estudio reciente procedente de Taiwan, demostró que factores como K1 y la hipermucosidad procedentes del género *Klebsiella* condicionan a la formación de abscesos hepáticos (García y Rodríguez, 2010).

#### 5.4 *Enterobacter spp.*

El género *Enterobacter* puede ser encontrado en las heces de humanos y animales, agua, plantas, insectos y productos lácteos. Este género se diferencia del género *Klebsiella* por su motilidad y por su resistencia antibiótica a Cefaletina e cefaloxitina. Las especies más comunes de este género, *Enterobacter aerogenes* y *E. cloacae* las cuales tienen significancia clínica, como bacterias oportunistas y una mayor frecuencia en infecciones en seres humanos (Hikari, 2014; Regli y Pages, 2015).

#### 5.5 *Citrobacter spp.*

El género *Citrobacter* ha sido aislado de tracto intestinal de animales y humanos, además se puede encontrar distribuido en el suelo, agua y comida. Este género tiene importancia en la salud pública porque causa serias infecciones nosocomiales con resistencia antibiótica. Las especies más comunes son la *Citrobacter freundii* y *Citrobacter Koseri* las cuales han sido aisladas de infecciones de tracto urinario y respiratorio (Naya *et al.*, 2014).

El *Citrobacter Koseri* es la única especie de *Citrobacter* que no ha sido aislada de material fecal. Se presenta en la flora normal de seres humanos sanos por lo cual una tasa de colonización aumentada inducirá a una infección en vías respiratorias superiores (Daza *et al.*, 2014). En cambio, el *Citrobacter ferundii* es considerada la especie más patógena dentro del género *Citrobacter*, se ha descrito infecciones en mamíferos acuáticos, tortugas, anfibios y peces domésticos, mantenidos en cautiverio y de vida libre. Esta especie tiene alta patogenicidad en aves jóvenes e inmunosuprimidos pudiendo causar septicemias y hepatitis, anteriormente otros autores han aislado esta especie en Galliformes, Anseriformes, Passeriformes, Struthioniformes, Charadriiformes y Podicipediformes (Gornatti *et al.*, 2014).

#### 5.6. *Providencia spp.*

Las bacterias procedentes del género *Providencia* son bacterias oportunistas que han sido aisladas a partir de ambientes y organismos animales y humanos. Dentro de este género se encuentran las especies *Providencia rettgeri*, *Providencia alcalifaciens* y *Providencia stuartii* las cuales han sido aisladas de heces de humanos. *Providencia* causa enfermedades de tracto urinario y otras enfermedades nosocomiales en seres humanos (Galec y Lazzaro, 2011).

*P. stuartii* es más común encontrarla en infecciones urinarias en seres humanos con catéteres urinarios causando una bacteria que la *P. rettgeri* y *P. alcalifaciens*. Por otro lado, *P. alcalifaciens* causa infecciones digestivas provocando diarreas y/o bacteriemias, Mathan *et al.* (1993) demostró la capacidad de *P. alcalifaciens* para colonizar. El primero es por endocitosis directo asociado con la polimerización de los componentes del citoesqueleto y el segundo es por medio de las bacterias que entran a través de uniones estrechas con las bacterias y espacios intracelulares (Manos y Belas, 2006).

## 6. RESISTENCIA ANTIBACTERIANA DE LA FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE

El uso de antibióticos favorece la aparición y diseminación de resistencia bacteriana. Se conoce dos tipos de resistencia antibiótica: la natural y adquirida. La resistencia natural se debe a los mecanismos genéticamente propios de la bacteria sin correlación con el incremento de dosis del antibiótico; sin cambio la adquirida se da por cambios en el ADN o por la adquisición de este (Sussmans et al., 2001).

Como menciona Kmet *et al.* (1993) los estudios retrospectivos demuestran que después de la introducción de un antibiótico no solo se eleva la resistencia patogénica de la bacteria sino que también los comensales bacterianos (Timko y Kmet, 2003); Sin embargo se sabe poco sobre la resistencia antibiótica de la microbiota bacteriana en aves silvestres. Aunque las aves de vida libre no están expuestos constantemente a antibióticos, pueden estar infectados con bacterias resistentes por contacto con otros animales, que pueden servir como soporte de éstos agentes, la que el aislamiento de bacterias resistentes se ha descrito en estas aves, sobre todo en la migración. Además de convertirse en un problema para la conservación de poblaciones de vida silvestres, la propagación de cepas resistentes pueden tener implicaciones para la salud pública, que depende la de la frecuencia e intensidad entre los humanos y los animales domésticos (Alogorta y Schelotto, 2004).

El gran número de especies dentro de la familia *Enterobacteriaceae* con lleva una gran variabilidad de patrones de sensibilidad natural. Esta diversidad se ve además incrementada por la posibilidad de adquirir genes de resistencia, tanto de microorganismos de las mismas especies como otras (Martínez, 2013). Esta familia tiene resistencia natural a las penicilina, oxacilina, macrólidos, clindamicina y glicopéptidos (INS, 2002).

Generalmente para tratar enfermedades originadas por enterobacterias se utilizan antibióticos pertenecientes a la familia aminoglicósidos, los cuales son

compuestos constituidos por moléculas de aminoazúcares conectadas por enlaces glicosídicos, dentro de esta familia de antibióticos se encuentran: estreptomicina, neomicina, gentamicina, tobramicina, amikacina, etc. Otros antibióticos que se puede utilizar para tratar enfermedades entéricas son los betalactámicos, dentro de esta familia se encuentra el aztreonam, ampicilina, amoxicilina, entre otros (Martínez, 2013).

Por lo que el presente trabajo tiene como objetivo identificar la resistencia de Penicilina, Ceftiofur Ciprofloxacina, Tetraciclina, Gentamicina, Cloranfenicol, Cefuroxime,

Nalidíxico, Oxitetraciclina, Enrofloxacina y Amikacina, en las bacterias pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* que se encuentren en durante la realización de la investigación.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 1. POBLACIÓN Y MUESTRA

Se utilizaron 33 aves de cuatro especies de Psitácidos mantenidos en cautiverio dentro del Parque Zoológico Huachica (Anexo N°1); *Pyrrhura picta* (5), *Primolius couloni* (21), *Pionus menstruus* (2) y *Pionus Chalcopterus* (5).

#### 2. MÉTODO DE CAPTURA FÍSICA

Las aves fueron contenidas durante la mañana a primeras horas del día en invierno; primero fueron capturadas con mallas y posteriormente fueron contenidas de forma manual (Anexo N°2). La contención se realizó de forma

rápida ya que como indican Zoltoff y Lezama (2009) un estrés excesivo puede provocar hipertermia y daño muscular.

### 3. TOMA DE MUESTRA

Se realizó mediante hisopado cloacal (Anexo N°3) e inmediatamente luego se colocó en tubos estériles cónicos, el cual contenía medio de transporte Stuart (Anexo N°4). Después las muestras fueron colocadas en una caja térmica y posteriormente llevadas al laboratorio de Microbiología de la Universidad Científica del Sur para su procesamiento.

## IV. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

### 1. SEMBRADO

Las muestras fueron sembradas en agar MacConkey; se realizó la siembra con el mismo hisopo que se mantuvo en el medio de transporte Stuart. La segunda siembra también se realizó en agar MacConkey, sin embargo para esta siembra se colocó los hisopos en caldo de enriquecimiento tripticasa de soya para la detección de enterobacterias (Anexo N°5).

Para detectar *Salmonella spp* se colocó los hisopos en Rappaport durante 24 horas a 41°C después del enriquecimiento de tripticasa de soya y posteriormente se sembró en Agar XLD. Todas las siembras que se realizaron en MacConkey se incubaron 24-48 horas a 37°C dependiendo del crecimiento de las bacterias formadores de colonia (Anexo N°6).

## 2. IDENTIFICACIÓN

Para la identificación morfológica de las bacterias se utilizó el método de tinción Gram, con este método se logró diferenciar bacterias Gram negativas de las bacterias Gram positivas.

La tinción Gram se basa en colocar como colorante primario cristal violeta el cual tiene afinidad con el peptidoglicano de la pared bacteriana luego se coloca lugol, el cual sirve de mordiente impidiendo la salida del cristal violeta por la formación de un complejo cristal violeta – yodo. Después se coloca alcohol-acetona el cual deshidrata la pared celular bacteriana y cierra los poros de la misma, también destruye la membrana externa de las bacterias gram negativas, estas bacterias retienen en menor cantidad el complejo cristal violeta – yodo que las bacterias gram positivas por tener menor cantidad de péptidoglicanos en la pared bacteriana. Por último se coloca safranina que tiene como función ser un colorante de contratación y sirve para teñir las bacterias que no pudieron retener el complejo cristal violeta – yodo (López *et al.*, 2014).

## 3. PRUEBAS BIOQUÍMICAS

Se realizaron 5 pruebas bioquímicas las cuales fueron: Sulfhídrico Indol Movilidad, Citrato, Urea, LIA, Tres azúcares- Hierro, Oxidasa y Catalasa. Cada prueba bioquímica indico distintas características que nos permitió identificar el género bacteriano (Anexo N°7).

#### 4. PERFIL DE RESISTENCIA ANTIBIÓTICA

Se utiliza agar Müeller Hinton con un inóculo que fue incubado en caldo de tripticasa de soya por 24 horas. Luego se procedió a colocar los discos de sensibilidad antibiótica en cada placa; se utilizó Penicilina, Ceftiofur, Ciprofloxacina, Tetraciclina, Gentamicina, Cloranfenicol, Ceftiofur, Ácido Nalidíxico, Oxitetraciclina, Enrofloxacin y Amikacina

#### V. RESULTADOS

##### 1. AISLAMIENTO BACTERIANO

Se tomaron un total de 33 muestras cloacales procedentes de 4 especies distintas de Psitaciformes dentro de las cuales se aislaron 35 cepas bacterianas; 18 muestras fueron positivas (18/33) y coincidentemente con aislamiento cada uno; se obtuvo un 51.4% (18/35) de cepas positivas a presencia de la Familia *Enterobacteriaceae* (Gráfico N°1). Los Psitácidos mantenidos en cautiverio procedentes del Parque Zoológico Huachipa están distribuidos en diferentes ambientes, los *Primolius couluni* (21) se encuentran en un solo ambiente así como también los *Pyrrhura picta* (5), sin embargo *Pionus chalcopterus* (5) y *Pionus menstruus* (2) comparte el mismo ambiente. Como se muestra en el Gráfico N°2 la mayor presencia de enterobacterias fue de la especie *Primolius couluni* con un 82%; en el caso de *Pyrrhura picta*, *Pionus chalcopterus* y *Pionus menstruus* la presencia fue 12%, 6% y 0% respectivamente.

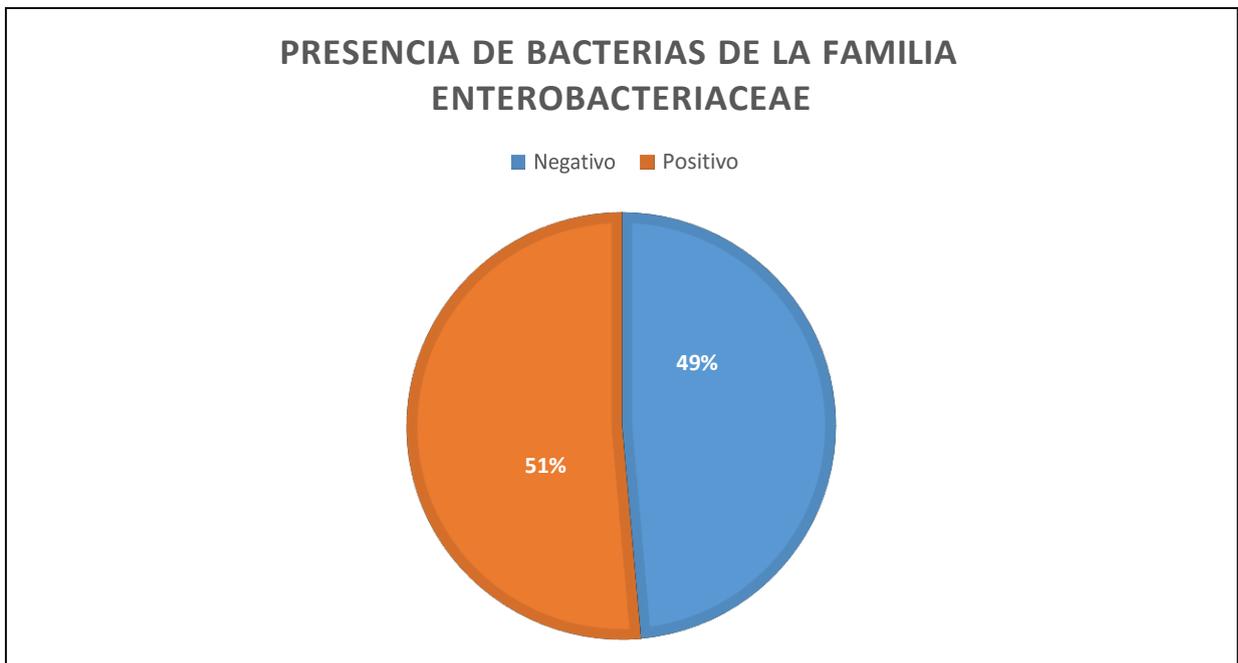


Gráfico N°1 Porcentaje de muestras positivas a la presencia de bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* en psitácidos muestreados en el Parque Zoológico Huachipa,

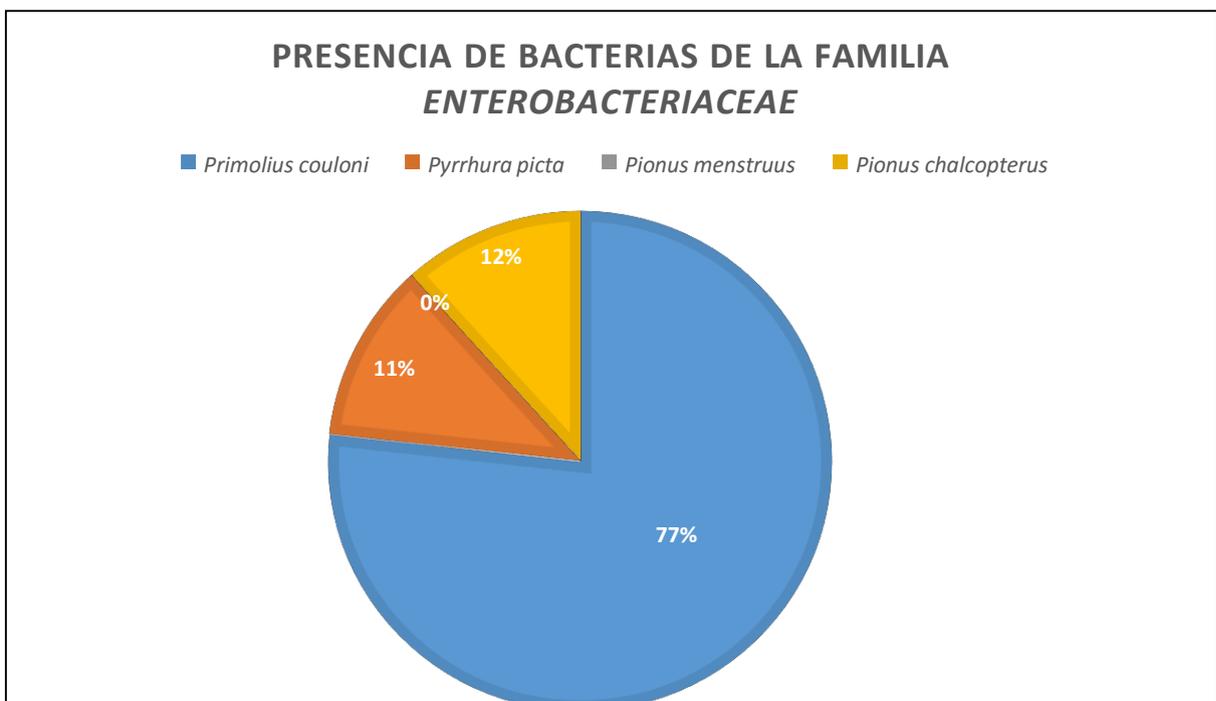


Gráfico N°2 Porcentaje de muestras positivas a la presencia de bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* por especie de psitácidos muestreados en el Parque Zoológico Huachipa.

## 2. PRUEBAS BIOQUÍMICAS.

Como resultado de la pruebas bioquímicas se encontró principalmente *E. coli* con 27.78% (5/18) seguido de *Klebsiella sp* 22.22 % (4/18), *Enterobacter sp.* 22.22 % (4/18) y *Providencia sp.* 22.22 % (4/18). La menor presencia fue de *Citrobacter sp.* con un total de 5.88 % (1/18) (Gráfico N° 3).

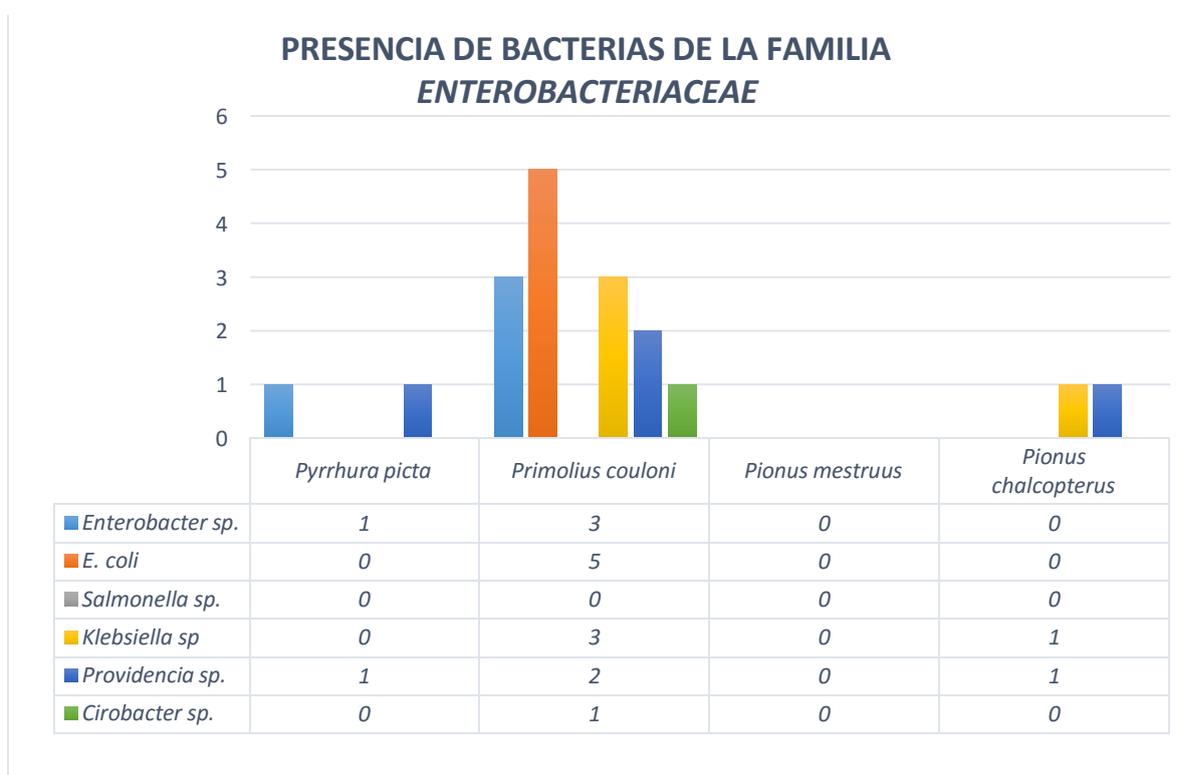


Gráfico N°3 Aislamientos de bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* por géneros bacterianos en psitácidos muestreados en el Parque Zoológico Huachipa.

Como se muestra en el gráfico N° 3 durante la realización del estudio la mayor presencia de bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* se encontró en *Primolius couloni* 77.8% (14/18) dentro del cual la mayor presencia fue *E. coli* 31.71 (5/18) (Gráfico 4).

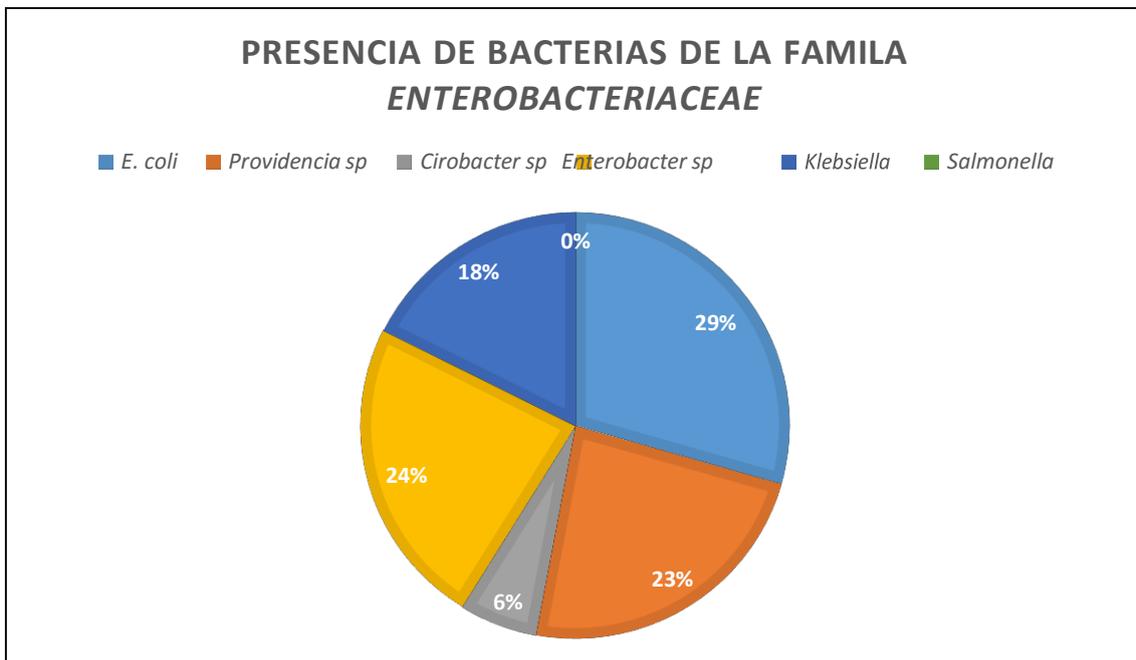


Gráfico N° 4 Porcentaje de muestras positivas al aislamiento de bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* por género bacteriano en psitácidos muestreados en el Parque Zoológico Huachipa.

### 3. DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA ANTIBIÓTICA

La prueba de resistencia antibiótica se realizó a partir de las muestras que resultaron positivas a TSI, las cuales fueron un total de 11 muestras. Como muestran los resultados de la Tabla 1 los antibióticos que presentaron mayor resistencia antibiótica fueron Penicilina 100% (11/11) seguido de Enrofloxacin 45.45% (5/11), Tetraciclina 36.36% (4/11) y Amikacina 27.27% (3/11) (Tabla 1).

Antibióticos	Índice de Sensibilidad antibiograma		
	Resistente	Intermedio	Sensible
Penicilina	100 % (11/11)	0 % (0/11)	0 % (0/11)
Ceftiofur	18.18% (2/11)	9.09% (1/11)	72.73% (8/11)
Ciprofloxacina	9.09% (1/11)	0% (0/11)	90.91% (10/11)
Tetraciclina	36.36% (4/11)	45.45% (5/11)	18.18% (2/11)
Gentamicina	9.09% (1/11)	0% (0/11)	90.91% (10/11)
Clorfenamina	9.09% (1/11)	0% (0/11)	90.91% (10/11)
Cefuroxina	9.09% (1/11)	0% (0/11)	90.91% (10/11)
Oxitetraciclina	9.09% (1/11)	63.64% (7/11)	27.27 (3/11)
Enrofloxacina	45.45% (5/11)	0% (0/11)	54.55 % (6/11)
Amikacina	27.27% (3/11)	0% (0/11)	72.73%(8/11)

Tabla N°1 Porcentaje del índice de sensibilidad antibiograma en bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* encontradas en psitácidos muestreados en el Parque Zoológico Huachipa.

## VI. DISCUSIÓN

El Perú es el segundo país con mayor biodiversidad a nivel mundial en avifauna, cuenta con 1811 especies; de estas, 117 son especies endémicas (Schulenberg *et al.*, 2010). A pesar de toda diversidad de la avifauna peruana y el gran número de aves mantenidas en cautiverio, pocos son los estudios que se realizan para la identificación de la flora bacteriana normal en estas especies y menos se conoce la existencia de bacterias con resistencia antibiótica. Sin embargo existen estudios donde hacen referencia a la identificación de entereobacterias en psitácidos; Costa (2003), Akher.*et al.*, (2010), Rojas *et al.*, (2002); más no específicamente en *Primolius couloni*, *Pyrrhura picta*, *Pionus mestrus* y *Pionus chalcopterus*.

La falta de información sobre bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* con resistencia antibiótica generan un uso indiscriminado de antibióticos durante la praxis médico veterinaria, provocando riesgo para la salud pública, ya que el uso de antibióticos de manera ineficiente y descontrolada favorece la aparición y diseminación de patógenos con mayor resistencia antibacteriana. (Timko y Kmet, 2003). Otro de los factores desencadenantes de la resistencia antibacteriana es sin duda el tráfico y comercio ilegal de fauna silvestre, en este sentido los animales sujetos al estrés de una pésima calidad de manejo y transporte que se exponen generan cuadros de estrés e inmunosupresión que muchas veces son tratados por médicos veterinarios no especializados o los tratamientos antibióticos son impartidos por los mismos traficantes que no tienen idea de las dosis ni de los tiempos mínimos de tratamiento que debe aplicarse para cada agente antibiótico, principalmente cuando se trata de fauna silvestre. Además el tráfico y comercio ilegal de fauna silvestre aumenta las chances de contacto de estas especies traficadas con el hombre generando un gran impacto negativo en la salud pública provocada por las bacterias con resistencia antibiótica.

Los resultados en el estudio mostraron una mayor presencia de bacterias de la Familia *Enterobacteriaceae* en *Primolius couloni* (14/18) y en menor presencia en *Pionus mestruus* (2/18). Las Enterobacterias son los principales agentes causales de infecciones en aves porque pueden sobrevivir por mucho tiempo en superficies orgánicas, agua o alimento; esto ocasiona que la contaminación se genere por varios medios (Barretos *et al.*, 2013); además influyen en el factor de estrés y nutricional (Costa, 2003).

Las bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* con resistencia antibiótica identificadas en el estudio demuestran la presencia 51.4% (18/35), esto concuerda con lo descrito por Xenoulis *et al.* (2010), donde menciona que la presencia de la familia *Enterobacteriaceae* es más significativa en aves silvestres mantenidas en cautiverio que en aves silvestres de vida libre, esto se debe posiblemente al constante contacto con otras especies de aves silvestres y al

manejo inadecuado al que son mantenidos muchas veces en condiciones de cautiverio. Sin embargo, en el caso de las aves del Parque Zoológico Huachipa las condiciones de mal manejo no se observan, ya que los ambientes donde se mantienen las aves están separadas de las aves de vida libre, se mantiene un estricto control nutricional y el manejo y la captura de las aves se realiza utilizando mallas a fin de disminuir el tiempo de captura y por ende reducir el estrés para las aves.

Los resultados obtenidos durante la realización del estudio demostraron una mayor presencia de *E.coli* 27.78 (5/18), lo cual concuerda por Rojas M. J *et al*, (2002) donde obtuvo un 43.63% de presencia de esta bacteria. Así mismo Xenoulis *et al*. (2010) detecto un 14% de bacterias pertenecientes a este género. Siendo que la *E. coli* tuvo mayor frecuencia en los resultados de la investigación concordando con los descrito por Bowman y Jacobson (1980), donde menciona que la *E. coli* es la enterobacteria comúnmente más encontrada en cultivos realizados con muestras obtenidas de aves de cautiverio.

La especie que obtuvo los porcentajes de presencia más elevados de *E. coli* fue la *Primolius couloni* con un 77.8 % (14/18) este indicador más los estudios anteriormente mencionados en otros psitácidos indica que existe una constante frecuencia de presentación en la flora natural de algunos psitácidos como en el caso de los *Primolius couloni*; por otro lado es posible que la adquisición de la *E. coli* sea por varias condiciones que se dan en el mismo medio que lo rodea debido a la capacidad de la misma bacteria para colonizar distintos medios; pero para afirmar esto se deberán realizar más estudios relacionados.

Se obtuvo 0% (0/35) de presencia de *Salmonella spp* concordando con Brightsmith (2004) donde obtuvo un 0% de presencia de *Salmonella spp* durante un estudio en Psitácidos de vida libre, cabe resaltar que mención que no es común encontrar psitácidos positivos a *Salmonella sp*, en vida libre; sin embargo, Butron y Brightsmith (2010) demostraron que los guacamayos escarlata (*Ara*

*macao*) procedentes de la misma zona muestreada presentaban anticuerpos positivos a *Salmonella* sp debido a la presentación subclínica e intermitente de la misma bacteria, está es una posible causa de los resultados obtenidos en el estudio; sin embargo, también se debe tener en cuenta el tiempo de transporte, competencia bacteriana y tiempo de colecta de muestra; ya que otros autores como Rojas *et al.*, (2002) obtuvo 3.2%, Costa (2003) un 7.56 %, Akher.*et al.*, (2010) un 46.67%; entre otros detectaron presencia de *Salmonella* spp en Psitácidos mantenidos en cautiverio.

También se aislaron otros patógenos como *Providencia* spp. 22.22% (4/18), *Enterobacter* spp. 22.22% (4/18), *Klebsiella* spp. 22.22% (4/18) y *Citrobacter* spp. 5.88% (1/18); estas bacterias han sido aisladas en otros estudios en Psitácidos como en el estudio realizado por González y Gómez (2007) donde determinan la presencia de *Providencia* spp, *Klebsiella* spp. y *Citrobacter* spp. a partir del hígado de *Psittacus erithacus* (Loro africano gris de cola roja) el cual murió por una enfermedad polimicrobiana; estas bacterias se encuentran generalmente en el ambiente, por ende el grado de infección que genere en el individuo dependerá principalmente del sistema inmune de las aves y del hombre.

Como se muestra en la Tabla N°1 los resultados demuestran que existe cierto grado de riesgo en la salud pública, concordando con lo reportado por Martínez (2013) el amplio uso de antibióticos tienden a terminar seleccionando cepas resistentes de bacterias, creando un problema crítico para la salud pública. Como se mencionó anteriormente las aves que fueron utilizadas para el muestreo fueron rescatadas del comercio y tráfico ilegal donde existe un mayor riesgo de desarrollar enfermedades y por ende ser inadecuadamente medicadas.

Todas las bacterias resultaron resistentes a penicilina como lo indica la bibliografía, sin embargo hubo casos donde la resistencia antibiótica discrepaba con la mencionada en la revisión bibliográfica con respecto a otros grupos

antibióticos, como en la determinación del perfil de resistencia a ceftiofur donde vario según la cepa bacteriana obteniendo resistencia de *Klebsiella spp* 33.33% (12/33) y *Citrobacter spp* 100% (1/11); estos resultados concuerdan con lo descrito por López y Echeverri (2009) donde indica que *Klebsiella spp* es resistente a cefalosporinas exceptuando a las cefamixinas: ceftiofur y cefotetan; sin embargo a que tener en cuenta que el 66.66% restante de *Klebsiella spp* resulto intermedio y sensible. En cuanto a los resultados de resistencia de la cepa *Citrobacter spp* discrepa a lo descrito por Daza et al. (2014) donde menciona que la *citrobacter spp.* tiene un patrón de sensibilidad similar al de *Klebsiella,spp* (cefalosporinas de tercera generación) lo que nos lleva a demostrar que no todas las bacterias del mismo género serán resistentes, siendo está una de las causas variabilidad bacteriana.

La resistencia frente a tetraciclina y enrofloxacin fue 36.36% (4/11) y 45.45% (5/11) respectivamente. Este aumento de resistencia concuerda con estudios relacionados en otras áreas de investigación en aves que demuestran que el amplio uso de antibióticos como agentes terapéuticos a lo largo de los años ha provocado la selección y aparición de resistencia bacteriana a estos antibióticos (Antilles. *et al.*, 2014).

Además si relacionamos el resultado de la resistencia bacteriana frente a la enrofloxacin (45.45%) obtenidos en el presente trabajo con el estudio realizado por Sumano y Gutierrez (2000). Podemos afirmar que una de las causas de la presencia de resistencia bacteriana a este antibiótico es por el uso descuidado sin bases a un diagnóstico de laboratorio. Esta resistencia antibiótica es sumamente alarmante porque como lo menciona Flammer (1999) existen pocas drogas que pueden sustituir a las fluoroquinolonas si ocurriese una resistencia total en este género.

De acuerdo a la bibliografía revisada este es el primer estudio que se realiza en la determinación de bacterias pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* con

resistencia antibiótica en *Pyrrura Picta*, *Primolius coulini*, *Pionus chalcopterus* y *Pionus menstruus*.

## VII. CONCLUSIONES

- Las aves silvestres mantenidas en cautiverio presentan un riesgo en la salud pública a pesar de ser mantenidas en condiciones adecuadas.
- La especie *Pyrrura Picta*, *Primolius coulini* y *Pionus chalcopterus* presentaron bacterias cloacales de la familia *Enterobacteriaceae* de importancia en la salud pública.
- Dentro de un mismo género bacteriano existen cepas capaces de mostrar diferentes índices de sensibilidad antibiograma.

## VIII. RECOMENDACIONES

- No adquirir aves y/o animales procedentes del comercio y tráfico ilegal.
- Realizar un estudio para determinar la presencia de flora cloacal natural en *Primolius couloni*, *Pyrrhura picta* y *Pionus chalcopterus*.
- Identificar el agente patógeno antes de realizar algún tratamiento que pueda dar origen a bacterias multidrogo resistente que causaran riesgo en la salud pública.

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Antilles N, Blanco A.m camprubi Q., Jove R y Biarnes M. Análisis de resistencia a antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli* aisladas en aves en España de 1998 a 2013. Centre de Sanitat Avícola de Catalunya i Aragó (CESAC), 43206 Reus, Tarragona, España, 2014.

Algorta G. y Schelotto F. Principales grupos de bacilos gramnegativos no exigentes. Temas de Bacteriología y Virología. Universidad de la República. Facultad de Medicina Departamento de Bacteriología y Virología Instituto de Higiene. 2006(2): 315 – 338.

Alvarado Velasquez M. Propuesta de manejo intensivo para loros cabeza amarilla (*Amazona oratrix*) y loro frente blanca (*Amazona albifrons*) en el ejido Jose Maria Morelos, Santa Maria Huazolotitlán, Oaxaca. Chapingo, Texcoco Estado de México Junio de 2008

Araújo Borges C. Deteccao e caracterizacao de *Escherichia coli* potencialmente patogénicas en aver selvagens e pombos – domesticos na cidade de Jabotical, SP. Universidad Estatal Paulista – UNESP. Facultad de ciencias agrarias y veterinarias. 2015.

Barreto G. C, Oliveir S y Bezerra L. Determinacao de enterobacterias de avifauna silvestres en criadouro conservacionista. Revista de biología e ciencias da terra. 2013; Volume 13- número 1- 1º semestre.

Bar-shira E. y Friedman. Development and adaptatons of innate inmunity in the gastrointestinal tract of the newly hatched chick. Dev Comp Inmunol. 2006 30 (930-941).

Bowman T.A y Jacobson E.R. Cloacal flora of Clinically normal captive Psittacine birds. J. zoo and Med. 1980; 11:81-46.

Bradshaw G.A y Engebretson M. Cría y tendencia de loros: Impacto de su captura y cautiverio. Animlas and Society Institute, 2013.

Brightsmith DJ, Taylor J, Phillips TD. The roles of soil characteristics and toxin adsorption in avian geophagy. *Biotropica*, 2008; 40: 766–774.

Burguet L. N, Sierra P N y C. Brito G L. Conservación de cepas microbianas por el método de liofilización para el control microbiológico en laboratorios Liorad. 2012; Volumen 43, N°3.

Butron O. y Brightsmith DJ. Testing for *Salmonella* SPP. in released parrots, wild parrots and domestic fowl in Lowland Peru. *Journal of Wildlife Diseases*, 2010; 46(3): 718–723.

Costa M. Deteccao de *Salmonella* sp. Em psitacideos de cativeiro através da reacao em cadeia da polimerase (PCR). Universidadde Feral do Rio Grande do Sul. Publicado en Porto Alegre 2003.

Clara M. Sección Zoología de Vertebrados: Aves. Curso de Biología Animal. Pág 15, 2008.

Cloasas A. Respuesta inmune de las aves y sus alteraciones. ARXIUS de Escp. Sup Apicultura. Barcelona pag 81 – 90, 1983.

Cruz A. M, Cruz A. A, Rincón R. M, Fernandez G, Aguilar L. J y Villasmil O. Y. Valores hematológicos de Psitacidos de los géneros Ara y Amazona cautivos en zoológicos de Venezuela. *Revista Científica FCV-LUZ*. 2008; 18 (6): 649 – 661.

García JA, Paniagua J, Pelayo R, Isibasi A y Kumate J. Factor de virulencia de *Salmonella typhi* en relación al desarrollo de nuevas vacunas. *Salud publica de Mexico*. 1999; 34 (3): 262-267.

Gerlach, H. Bacteria. In B.W. Ritchie, G.J. Harrison & L.R. Harrison (Eds.) *Avian medicine: principles and application*. Lake Worth, FL: Wingers Publishing Inc. 1994; 950–983.

Galac MR y Lazzarro BP. "Comparative pathology of bacteria in the genus *Providencia* to a natural host, *Drosophila melanogaster*". *El Siver. Microbes na infection* 2011 (1-11)

CITES. *Especies de Fauna silvestre peruana en los apéndices de la CITES. Versión 1.1- Diciembre 2014.*

Gómez O y Henriquez A. "Valores Hematológicos de Psitácidos de los Géneros *Ara* y *Amazona* cautivos en Zoológicos de Venezuela". *Revista científica, FCV – LUZ. Vol. XVIII, N°6, 649-661, 2008.*

Gómez V. G, Coello L. C, Bernal M.C y Gonzalez A. E. "El sistema digestivo de las aves". *Investigación y ciencias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. Enero-Abril 2010. 48(9-16).*

Gornatti Churria CD, Arias N, Origlia J, Netri C, Marcantoni H, Píscopo M, Herrero Loyola M y Petruccelli M. *Citrobacter freundii* infection in two captive Australian king parrots (*Alisterus scapularis*). *Journal of Zoo and Aquarium Research* 2(2) 2014.

Gonzales, J. A. *Aves silvestres de importância econômica em el sector meridional de la resetrva nacional Pacaya Samiria (LORETO, Peru). Manejo y Conservación de Fauna Silvestre en América Latina. Editorial Instituto de Ecología, La Paz, Bolivia. 1999: 315-328.*

González L.Z y Gómez L.P. Enterobacterias en hígado de *Psittacus erithacus*. *Microbiología. Facultad de Veterinaria de la ULPGC. Revista canaria. 2007 :(4)11-13*

Davin-Regli A y Pagès JM. *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment. *Frontiers in Microbiology. 2015; 6:392*

Daza H. AL, Arroyo E. S y Bravo E. GA. Identificación de *Citrobacter Koseri* como nuevo patógeno en pacientes con rinitis crónica. *Anales de Ornitología Mexicana. 2014; 59 :1 -10.*

Dousa L. E. Investigación de *Salmonella sp.* Em Psittaciformes mantidos em criatórios comerciais e conservacionistas da região metropolitana de Fortaleza- Ceara. Universidade Estadual do Ceara, 2011.

Ferruzca Uribe JG. Lineamiento para el establecimiento de un programa higiénico sanitario para el control de tifoidea aviar. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. División Regional de Ciencia Animal. Mexico – 2010.

Figueroa Ochoa IM y Verdugo Rodríguez A. “Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella sp.*”. Revista Latinoamericana de Microbiología. 2015; 47 (1-2): 25- 42.

Flammer K. Uso da enrofloxacin (BAYTRIL) em Psitacideos. Third international Veterinary Symposium on Baytril. Proceedings – supplement to compendium on education for the practicing veterinarian, 1999: 107-109.

Health Protection Report. Voluntary surveillance of bacteraemia caused by *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.* and *Citrobacter spp.* in England, Wales and Northern Ireland: 2009-2013. Infection report. 2014; 8:40 – 17.

Hirai CK. *Enterobacter spp.* Microbiología em Foco. Revista analytica. Octubre - Noviembre 2014; 73.

Jawetz, E., Melnick., Adelberg. Review of Medical Microbiology. Los Altos, California: Lange Medical Publication. 1995: 227-230.

Interpol. Environmental crime: Wildlife. Lyon, France. International Police, 2008.

Izquierdo Lázarp L. "Biosíntesis del lipopolisacárido de *Klebsiella Pneumoniae*". Universidad de Barcelona Facultad de Biología Departamento de Microbiología. Barcelona. 21 de Marzo del 2003.

Martinez VJ. Enterobacterias aisladas desde fecas de bandurria (*Theristicus melanopis*) y su resistencia a antibióticos. Universidad Austral del Chile, 2013.

Manos J y Belas R. The Genera *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. *Prokaryotes*. 200; (6):245–269.

Mensa J, Gatell J, Azanza J, Dominguez A, Garcia J y Jimenez A. Guía de terapéutica antimicrobiana. 18 Edición editorial el siever Masson. Barcelona España. 2008; 452-453 p.

Nayar R, Shukla I y Sultan A. Epidemiology, Prevalence and identification of *Citrobacter* Species in clinical Specimens in a tertiary care hospital in India. *International Journal of Scientific and Research Publications*. 2014; 4: 1- 6

Neri Godoy Silvia. “Psittaciformes (Guacamayos, Loros, Periquitos)”. *Cubas. Z.S, Silva J. C, Catao D. J.L. Tratado de animais selvagens Medicina Veterinaria*. 1º Edición Editora Roca Ltda. 2007. Pag 222

Noriega M. Evaluación de un programa de nutrición para las especies *Amazona amazonica* (lora alianaranjada) y *Amazona ochrocephala* (lora real), en La Fundación Zoológico Santacruz, con énfasis en el comportamiento de los animales en exhibición. Universidad de la Salle. Bogota, 2007.

Loaiza J. M, Sornoza F. A, Agreda A. E, Aguirre J, Ramos R y Canaday C. The presence of Wavy-breasted Parakeet *Pyrrhura peruviana* confirmed for Ecuador. *Cotinga* 23 (2005): 37–38

López J.L, Hernández D.M, Colín C.C, Ortega P.S, Cerón G.G, Franco C.F. Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. Enero-Marzo 2014; 3: (1)10-18.

López Vargas JA, Echeverri Toro LM. *K. pneumoniae*: ¿la nueva “superbacteria”? Patogenicidad, epidemiología y mecanismos de resistencia. *Universidad Pontificia Boliviana*. Junio 2010; 23(2):157-165.

Lozano L. A, Pastor M, Rosales M, Obando M, Del Río M y Canela M. J. Estado de Conservación de *Primolius couloni* “guacamayo verde cabeza azul! En el Perú. Servicio Nacional de Áreas Naturales Protegidas por el Estado. Dirección de Gestión de Áreas Naturales Protegidas.. Lima- Perú. Marzo 2010

Parra M, Durango J y Máttar S. Microbiología Patogenesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por *Salmonella*. MVZ-Córdoba. 2002; 7:(2), 187-200.

Padilla C. J. Estudio retrospectivo de los casos de mortalidad de las especies amazónicas, *Pionus menstruus*, y *Ara ararauna* recibidas en el laboratorio de histopatología de la U.D.C.A entre los años 2009 – 2010. Universidad de ciencias aplicadas y ambientales. Bogota, 2012.

Pautrat L, Angulo I, Germana C, Uchima C, Castillo R y Candela M. Manual de identificación de especies peruanas de flora y fauna silvestre susceptible al comercio ilegal, 2002.

Peterson, A., Vieglais, D. y Andreasen, J. Migratory birds modeled as critical transport agents for West Nile virus in North America. Vector Borne Zoonotic Disease. 2003; 3:27-37.

Puerta-García A. y Mateos-Rodríguez F. Enterobacterias. Unidad de Enfermedades Infecciosas. Servicio de Medicina Interna. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete. Albacete. España. 2010;10(51):3426-31.

Ramos S. Clínica de animais exóticos e silvestres: Patologias nutricionais em psitacídeos. Universidade de Évora. 2014.

Rebollar M. Evaluación de indicadores productivos en pollos de engorde al incluir maíz y pasta de súa extrudidos y malta de cebada. Universidad de Colima. Diciembre, 2002.

Recalde, A. Estudio y comparación de la dieta tradicional con una dieta alternativa específica para un grupo de psitácidos del Zoológico de Quito en Guayllabamba. Quito – Ecuador. Noviembre 2013.

Rey A. Isolamento e caracterizacao de enteropatógenos bacterianos provenientes do tráfico de animais selvagens no estado do Rio de Janeiro – Brasil: Riesgo para a saúde pública. 2014.

Rojas M. J, Garcia M, Rejo T, Masdeu V y Acosta I. Hallazgo bacteriológico y micológico en aves psitácidas. Rev Cuabana de Ciencia Avícola. 2002; 26: 125-128.

Rodriguez G y Angeles M. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. Salud publica Mex. 2002;44:464-475.

Rustrián F.G, Ramírez M.D, Solano G.G y Anda H.A . Estudio preliminar de identificación bioquímica de Enterobacterias en heces de Coyote (*Canis latrans*) en vida salvaje y cautiverio. Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad Simón Bolívar, México 2 Centro de Investigación y Estudios Avanzados, IPN, México. 9 de octubre de 2013 (121 – 132).

Timko J.V y Kmet V. Susceptibility of *Enterobacteriaceae* from the Alpine Accentor *Prunella collaris*. Acta Vet. Brno 2003, 72: 285-288.

Tavernari, S. Salguero, Albino L.FT y Rostagno H. “Nutrición, Patología y Fisiología digestiva en pollos; Aspectos prácticos”. Universidad federal de Viscosa- Brasil. Pág. (31-45), 2008.

Saidenberg B. A, Texeira H.R, Guedes N.M, Allayer C.M, Melville A.P y Benites R.N. Molecular detection of enteropathogenic *Escherichia coli* in asymptomatic captive psittacines. Pesquisa Veterinaria Brasileria 2012. 32(9):922-926.

Schulenberg T. S., Stotz D.F, Lane D.F, O'Neill J.P y Parker T.A. Birds of Peru, revised and updated. Princeton, NJ: Princeton University Press, 2010.

SERNANP. Estado de conservación de *Primolius couloni* “Guacamayo verde cabeza azul” del Perú. Dirección de Gestión de Áreas Naturales Protegidas. Marzo, 2010.

Soto P. C y Bert E. Principios em la alimentación de Psitacidos. Revista electronica de veterinária 2012; (12) 11.

Springs P. 12º Ronda latinoamericana da Alltech. Pag 57-70, 2002.

Sumano, H. y L. Gutiérrez, Problemática del uso de Enrofloxacin en la Avicultura en México, Vet. México: 2000; 1 (2):137-145.

Sussman O, Mattos L, Restrepo A. Resistencia bacteriana. Hospital Universitario San Ignacio. Unidad de Infectología. Bogotá – Colombia. 2001; 43(1): 91.

Tizard. Inmunología Veterinaria. 4° ed. Mexico: Interamericana; 1997.

O' Malley B. Anatomía y Fisiología Clínica de animales exóticos. Anatomía y Fisiología de las Aves. Editorial Servet. España. Pág (162-175), 2007.

O'Malley, B. Avian anatomy and physiology. En B. O'Malley (Ed.), *Clinical Anatomy and Physiology of Exotic Species. Structure and function of mammals, birds, reptiles, and amphibians*. Elsevier Saunders (págs. 97-161), 2005.

Vadillo M.S. Enterobacteriaceae: características generales. Manual de microbiología veterinaria. Madrid, 2002 (1):301-326.

Vargas J, Mattar S y Monsalve S. Bacterias patógenas con alta resistencia a antibióticos: estudio sobre reservorios bacterianos en animales cautivos en el zoológico de Barranquilla Infectio.2010;14 (1): 6 – 19.

Vuotto C, Longo F, Balice MP, Donelli G y Varaldo PE. Antibiotic Resistance Related to Biofilm Formation in *Klebsiella pneumoniae*. Pathogens 2014; 3: 743.

Wanderley H, Hidas J, Cardoso M, Coelho G, Sá Jayme V y Auxiliadora M. Enterobacterial Detection and Escjherchia coli antimicrobial

resistance in parrots seized from the illegal wildlife trade. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*.2013; 44(1):1-7.

Xenoulis G.P, Gray L.P, Brightsmith D, Palculict B, Hoppes S, Steiner M.J, Tizard I, Suchodolski S.J. Molecular characterization of the cloacal microbiota of wild and captive parrots. *Veterinary Microbiology*, 19 Mayo 2010.

Zolotoff- Pallais J. M y Lezama M. Manual básico: Manipulación de fauna silvestre decomisada en Nicaragua. Pág. 27, 2009.

X. ANEXOS



Anexo 1- Fotografías de algunas especies muestreadas en el trabajo: *Pyrrhura picta* (A) y *Primolius couloni* (B), *Pionus menstruus* (C) y *Pionus Chalcopterus* (D).



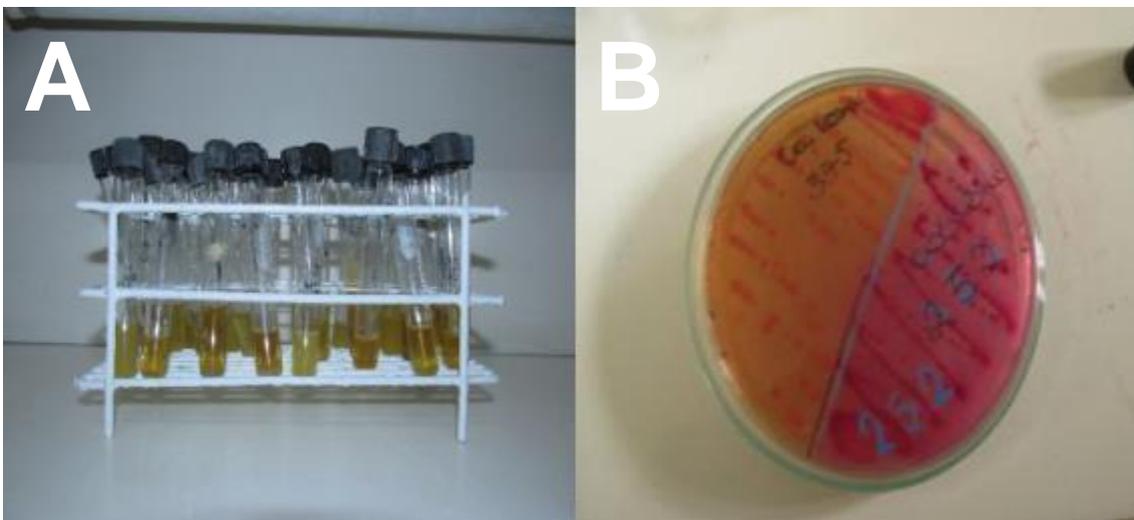
Anexo N° 2- Fotografías contención física realizada durante el trabajo. Especies: *Pyrrhura picta* y *Primolius couloni*.



Anexo N° 3 – Toma de muestra de hisopado cloacal. Especie: *Pionus chalcopterus*.



Anexo N° 4- Tubos estériles cónicos de la toma de muestras.



Anexo N°5 - (A) Tubos con Tripticasa de soya, (B) Muestras de *Primolius coluni* sembradas en agar Mac conckey.



Anexo N° 6 – Tubos de ensayo con caldo de Rappaport, enriquecimiento tardío para hallar *Salmonella spp.*



Anexo N°7 – Pruebas bioquímicas procesadas apartir de las bacterias obteniadas de las muestras cloacales.