

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL  
DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**Identificación de cepas nativas de Streptococcus  
spp. del contenido gastrointestinal de las crías de  
Lama pacos “alpaca”, INIA. Ayacucho, 2009.**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
BIÓLOGA**

**PRESENTADO POR:  
Bach. PALOMINO JAYO, FELÍCITAS**

**AYACUCHO - PERÚ  
2010**

**Con infinito amor a mis  
padres: Moisés y Agrepina,  
que me brindan amor y  
aliento en cada momento de  
mi vida.**

**A mi hermana, Esperanza y hermano  
Hipólito, por su apoyo constante y  
quienes hicieron posible alcanzar este  
noble propósito.**

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, alma mater en la cultura de la humanidad, que través de la Facultad de Ciencias Biológicas, me cobijó en su claustro durante mi formación profesional.

Al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, por los materiales y equipos facilitados para la realización del presente trabajo de investigación.

A los Maestros, docentes de la Facultad de Ciencias Biológicas, forjadores y constructores de hombres al servicio de la sociedad y de la humanidad; quienes, a diario me impartieron sus conocimientos, para culminar en forma satisfactoria mi formación profesional.

A mi asesora, Mg. Vidalina Andía Ayme, por brindarme sus conocimientos y orientación, así mismo mi gratitud al Dr. M.V. Marco Cabrera González, investigador en camélidos de la Estación Experimental Canaán, perteneciente al Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Ayacucho, quienes hicieron posible el desarrollo y culminación del presente trabajo de investigación. Finalmente, a todas aquellas personas que de una u otra manera contribuyeron en la ejecución y culminación del presente trabajo de investigación.

## ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN.	v
I. INTRODUCCION.	1
II. MARCOTEÓRICO	4
2.1. Antecedentes	4
2.2. Bacterias	6
2.3. Género Streptococcus	8
2.4. Bacterias ácido lácticas	9
2.5. Identificación bioquímica	11
2.6. Aspectos generales de la alpaca	16
2.6.1. Clasificación taxonómica	17
2.6.2. Importancia de los camélidos sudamericanos	18
2.6.3. Distribución geográfica de las alpacas en el Perú	19
2.6.4. Población de alpacas en el Perú y en Ayacucho	20
III. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1 UBICACIÓN	21
IV. RESULTADOS	25
V. DISCUSIÓN	30
VI. CONCLUSIONES	35
VII. RECOMENDACIONES	37
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
ANEXOS	

Identificación de cepas nativas de *Streptococcus spp.* del contenido gastrointestinal de las crías de *Lama pacos* "alpaca", INIA. Ayacucho, 2009.

Autor : Bach. Felicitas, Palomino Jayo.

Asesora : Mg. Vidalina Andía Ayme.

### RESUMEN

El presente trabajo de investigación es básico descriptivo, consistió en la Identificación de *Streptococcus spp* del contenido gastrointestinal de crías de "alpaca" de la raza huacaya, con el fin de identificar y aislar especies de *Streptococcus* que habitan en el contenido gastrointestinal.

Para la toma de muestras se hizo un muestreo aleatorio simple obteniéndose 10 muestras de crías de alpaca de raza huacaya, provenientes de dos comunidades alpaqueras (Ccarhuapampa y Santa Fé), sacrificando el animal, se obtuvo 1ml de muestra del contenido gastrointestinal. Se hizo el preenriquecimiento en caldo lactosado incubándose a 37°C por 24 horas. Luego se sembró por la técnica de agotamiento en superficie en agar *Streptococcus* se incubó a 37° C por 48 horas. Se seleccionan las colonias pequeñas con bordes netos como gota de rocío, para realizar el repique en ceparios. Luego se hizo la identificación presuntiva (coloración Gram y catalasa). Se obtuvieron 21 cepas puras a partir de las 10 muestras de crías, luego se realizó la prueba de hemolisis en agar sangre, la prueba de crecimiento a temperatura 45°C y pH 9.6, para finalmente realizar la identificación confirmativa, con las prueba de fermentación de azúcar como: inulina, lactosa, manitol, rafinosa, ribosa, salicina y sorbitol. Se llegó identificar cinco especies del género *Streptococcus* siendo en mayor porcentaje la especies de *Streptococcus parvulus* con 28.6%, seguido *Streptococcus intestinalis* y *Streptococcus thermophilus* con 23.8%,

Palabras clave: *Streptococcus spp*, *Lama pacos*. "alpaca".

## I. INTRODUCCIÓN

Nuestro país es el primer productor de camélidos sudamericanos a nivel mundial, con una población aproximada de 4 millones de animales, entre alpacas, vicuñas y llamas. La mayoría están en los departamentos del sur como Puno, Cusco, Arequipa, Ayacucho y Huancavelica; constituyéndose así la especie ganadera más importante desde el punto de vista económico en las zonas alto andinas (Solis, 1997).

Los Streptococcus comprende un grupo heterogéneo de bacterias responsables de diferentes cuadros clínicos tanto en el hombre como en los animales, a partir de varios factores tales como: las características propias del tipo de Streptococcus responsable, la puerta de entrada y las particularidades intrínsecas del huésped (Jawetz y col., 2006).

Son exigentes, requieren medios con sangre y/o suero. Son adecuados el agar sangre que permite diferenciar Streptococcus Beta hemolítico y ahemolítico, en el agar sangre con azida de sodio. Las colonias con 24 horas de incubación a 37 °C en aerobiosis o anaerobiosis son de 1 a 2 mm de diámetro, en forma de gotas de rocío. Es característica del género la prueba de Catalasa negativa. Pruebas de asimilación de carbohidratos, son útiles para la identificación de especies. No producen pigmento con excepción de algunas especies de los grupos B y D

(Martínez, 1995).

Los *Streptococcus* están distribuidos de una forma muy amplia en la naturaleza, unos forman parte de la flora normal y otros se relacionan con enfermedades en cuadros clínicos muy disímiles atribuibles en parte a la susceptibilidad hacia ellos. Se ha observado que estas entidades, aunque afectan con mayor frecuencia a humanos, cerdos y bovinos, puede infectar a otras especies como carneros, perros y gatos (Martínez, 1995).

*Streptococcus thermophilus* es una bacteria láctica termófila utilizada como fermento lácteo en la industria lechera. Estas bacterias transforman la lactosa en ácido láctico, y presenta por eso una actividad acidificante. Esta acidificación, inhibe el crecimiento de numerosas bacterias indeseables, algunas de las cuales son bacterias patógenas, y permite también, más o menos rápidamente, su eliminación. La actividad acidificante de estas bacterias está duplicada sin embargo por la actividad de hidrólisis de la urea, actividad que afecta la cinética de acidificación (Martínez, 1995).

Cada especie animal presenta una composición distinta y específica de microbiota intestinal. La identificación y posterior aislamiento de microorganismos autóctonos a partir de animales sanos, permite disponer de un producto biológico natural que, administrado a ejemplares de la misma especie animal, favorece el equilibrio de su ecosistema gastrointestinal y su sanidad en general. El uso de los microorganismos autóctonos con capacidad probiótica es una alternativa terapéutica para el tratamiento y prevención de las afecciones gastrointestinales de los animales jóvenes, su utilización puede prevenir la colonización del tubo digestivo por los patógenos, estimular el desarrollo del sistema inmunológico y contrarrestar el efecto negativo de dichas enfermedades (Fuller, 1989).

En el caso de la Región de Ayacucho las áreas productoras se encuentran entre

las más pobres del país, muchas de ellas son comunidades aisladas, poseen un bajo nivel educativo y no cuentan con servicios de agua, luz ni desagüe. La época de lluvia en la zona se inicia en el mes de octubre, lo cual coincide con la época de parición, época en donde hay mayor disposición de pastos naturales, pero existe un incremento de la humedad, propiciando un ambiente óptimo para el desarrollo de bacterias, sumándose a ello la escasa infraestructura de dormideros, lo cual imposibilita la rotación de éstos. La alpaca hembra pare en canchas húmedas, contaminadas y en malas condiciones, y al nacer las crías quedan expuestas a los microorganismos del ambiente que los rodea, y muchas veces entran en contacto las heces, que contienen bacterias que colonizan su tracto digestivo, ocasionando muchas veces frecuentes enfermedades diarreicas y finalmente la muerte de las crías; teniendo en cuenta que en la Región las enfermedades diarreicas en crías de alpaca, tiene una elevada tasa de incidencia llegando al 50% del total de alpacas, y los tratamientos realizados muchas veces no hacen efecto, posiblemente a la resistencia adquirida por los microorganismos, hecho que es preocupante y se tiene que incidir en la identificación de la flora bacteriana gastroenterica de las crías de alpaca con la finalidad de multiplicar estas bacterias con capacidad probiótica en condiciones de laboratorio y formar aditivos probióticos para alpacas que ofrezcan beneficios similares que los antibióticos (Chesson y Forsberg, 1997).

El objetivo general del trabajo de investigación consistió en: Identificar cepas nativas de *Streptococcus spp* del contenido gastrointestinal del las crías de *Lama pacos* "alpaca" INIA. Ayacucho, 2009; siendo como objetivo específico:

- ✓ Identificar y aislar especies del género *Streptococcus spp* del contenido gastrointestinal de crías de *Lama pacos*. "alpaca" raza huacaya.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. ANTECEDENTES

Aquino (2004), manifiesta que las bacterias que colonizan el tracto digestivo, buscan un nicho adecuado donde compiten e interaccionan entre sí, constituyendo finalmente una población relativamente estable y compleja, que representa la microflora intestinal aparentemente normal de la cría. No obstante puede ser alterada por cambios dietéticos, stress o ambientales Chesson y Forsberg (1997), indican que la flora intestinal está sometida a la intensa presión selectiva del ambiente ruminal. Estos microorganismos en simbiosis se adaptan a sobrevivir en condiciones de anaerobiosis no estricta, altos ritmos de dilución, altas densidades de células y a la predación protozoaria, y han desarrollado distintas capacidades para la utilización eficiente de los complejos polímeros vegetales (celulosa y hemicelulosa).

Mateos (1990), señala que en el aparato digestivo de los rumiantes existe bacterias lactoacidofilas como: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus cremoris*, *Streptococcus faecium*, *Streptococcus intestinalis*, *Bacillus subtilis*.

Smart Microbials INC (2005), menciona que las principales bacterias como: *Lactobacillus acidophilus*: estabiliza la viabilidad en el tracto digestivo, estas bacterias son productoras de ácido láctico y los beneficios en la salud de los animales, no sólo se encuentran limitados al mejoramiento del balance microbiano; sino que, también incluye otros efectos como: presentar eficiente actividad antagónica contra una variedad de microorganismos patógenos, competencia por los receptores que permiten la adhesión y colonización de la mucosa intestinal; o bien, desarrollar efectos inmunomoduladores, entre otros. *Streptococcus faecium*: La cual produce ácido láctico, estas bacterias pueden multiplicarse más rápido que las de *Lactobacillus acidophilus* y pueden colonizar en grandes cantidades la mucosa de la pared intestinal, donde muestran su actividad antimicrobiana hacia muchos microorganismos enterotoxigénicos de la pared intestinal, tales como: *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Clostridium spp*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*.

*Bacillus subtilis*: Bacterias Gram positivas, forman esporas que pueden crecer bajo condiciones aeróbicas o anaeróbicas, son fermentativas y ayudan en la digestión de carbohidratos, pueden multiplicarse en el tracto digestivo, produciendo grandes cantidades de enzimas digestivas, tales como: amilasa, betaglucanasa, hemicelulasa y proteasa, estas bacterias también pueden competir contra bacterias patógenas para adherirse por espacio en la pared intestinal; ayudando a reducir el nivel de diarreas y mortalidad de animales.

Roberfroid (2000), señala que los componentes de la flora intestinal varían de una persona adulta a otra ya que dependen del medio en el que

habita el ser humano, de su alimentación y del patrimonio genético de cada individuo.

Camacho (1999), indica que en el tracto gastrointestinal, se encuentra normalmente un gran número de especies de bacterias comensales y patógenas; sin embargo, cuando se incrementa la cantidad de microorganismos patógenos, se puede producir alteraciones en la salud y muerte.

Fuller (1989), sostiene que los probióticos, han sido señalados como posibles reemplazos de los antibióticos. Estos han sido definidos como microorganismos vivos que ejercen un efecto benéfico para el tracto intestinal del hospedero, manteniendo y reforzando los mecanismos de defensa antipatógenos sin perturbar las funciones fisiológicas y bioquímicas normales.

Fox (1988), sostiene que las principales formas de control de enfermedades entéricas, se basan en el uso de antibióticos vía alimento; no obstante su uso prolongado puede generar resistencia en cierto tipo de bacterias patógenas, esto reduce el número de antimicrobianos disponibles en la industria para el control de infecciones bacterianas.

## **2.2. BACTERIAS**

Las bacterias poseen una estructura relativamente simple. Son microorganismos procariotas, es decir, unos microorganismos unicelulares simples, sin membrana celular, mitocondrias, aparato de Golgi ni retículo endoplasmático que se reproducen por división asexual. Aunque la pared celular que rodea a las bacterias es bastante compleja, existen dos formas básicas una pared celular Gram positivas (con una capa de peptidoglucanos gruesa) y una pared celular Gram negativa (con una capa de peptidoglucanos delgada), así como una membrana externa. Algunas

bacterias no tienen esta pared celular y compensa su ausencia sobreviviendo tan sólo en el interior de las células del huésped o en un ambiente hipertónico. Para realizar una clasificación preliminar de las bacterias se utiliza su tamaño, su forma (esferas, bastoncillos, espirales) y su disposición espacial (células aisladas, en cadenas y formando cúmulos); en cambio, la clasificación definitiva se hace atendiendo a sus propiedades fenotípicas y genotípicas. El organismo humano está habitado por miles de especies bacterianas distintas; además, mientras algunas mantienen una relación parasitaria temporal, otras viven en el ser humano en forma permanente (Broock y col., 2002).

### **Gram positivas**

Una bacteria Gram positiva posee una pared celular gruesa que, consta de varias capas y está formada principalmente por peptidoglicano que rodea la membrana citoplásmica. Sin embargo, el peptidoglicano de la célula es lo suficientemente poroso como para permitir la difusión de los metabólicos a la membrana plasmática. El peptidoglicano es un elemento clave para la estructura, la replicación y la supervivencia de las células en las condiciones normalmente hostiles en las que proliferan las bacterias. La célula Gram positiva puede poseer también otros componentes, como los ácidos teicoicos y lipoteicoicos, y polisacáridos complejos. Los ácidos teicoicos son unos polímeros hidrosolubles de fosfatos de poliol que están unidos al peptidoglicano mediante enlaces covalentes y son fundamentales para la viabilidad celular. Los ácidos lipoteicoicos poseen un ácido graso y se encuentran unidos a la membrana citoplásmica. Estas moléculas son antígenos de superficie frecuentes que diferencian los serotipos bacterianos y favorecen la fijación a otras bacterias y a receptores específicos localizados en la superficie de las células de los mamíferos

(adherencia). Los ácidos teicoicos constituyen unos señalados factores de virulencia. Los ácidos lipoteicoicos son expulsados hacia el medio circundante y al medio intercelular del organismo anfitrión y, aunque débiles, son capaces de desencadenar respuestas inmunitarias semejantes a las de las endotoxinas. Se llaman bacterias Gram positivas a las que no poseen una membrana externa para proteger el citoplasma bacteriano, tienen una gruesa capa de peptidoglicano y presentan ácidos teicoicos en su superficie. Así mismo presentan una mayor resistencia a los antisépticos. Desde el punto de vista morfológico encontramos en esta clasificación, cocos y bacilos (Broock y col., 2002).

#### Gram negativas

Las paredes celulares Gram negativas son más complejas (tanto desde el punto de vista estructural como químico) que las de las células Gram positivas. Desde el punto de vista estructural, una pared celular Gram negativa contiene dos capas situadas en el exterior de la membrana citoplásmica. Inmediatamente por fuera de la membrana citoplásmica se encuentra una delgada capa de peptidoglicano que representa tan sólo un 5% a 10% del peso de la pared celular. Además, la pared celular Gram negativa no contiene ácidos teicoicos ni lipoteicoicos. En la parte externa de la capa de peptidoglicano se halla la membrana externa, la cual es exclusiva de las bacterias Gram negativas (Broock y col., 2002).

### 2.3. Género *Streptococcus*

Las bacterias del género *Streptococcus*, son microorganismos de forma esférica u ovoide, que se disponen principalmente en parejas y ocasionalmente formando cadenas cortas, Gram positivas, anaerobios facultativos, homofermentativos metabolizan la glucosa y el producto final predominante es el ácido láctico. Crecen a una temperatura 37°C y pH

óptimos 9,6 respectivamente. Poseen unas necesidades nutritivas para el crecimiento que varían ampliamente entre especies: aminoácidos, péptidos, purinas, pirimidinas y vitaminas (Hardie, 1992).

#### **Taxonomía**

Domino	:	Bacteria
División	:	Firmicutes
Clase	:	Bacilli
Orden	:	Lactobacillales
Familia	:	Streptococcaceas
Género	:	<i>Streptococcus</i>
Especie	:	<i>Streptococcus sp.</i>

#### **Características**

*Streptococcus* es un grupo formado por diversos cocos Gram positivos que normalmente se disponen en parejas o en cadenas. La mayoría de las especies son aerobias y anaerobias facultativas, no representan esporas, inmóviles, algunas forman cápsulas, catalasa negativo, oxidasa negativo, metabolismo fermentativo, colonias muy pequeñas de bordes netos como gotas de rocío hábitat amplia distribución: comensales en el tracto respiratorio, genital y digestivo. Sus requerimientos nutricionales son complejos, necesitando para su aislamiento el uso de medios enriquecidos con sangre o suero. Fermentan los hidratos de carbono, produciendo ácido láctico (Freeman, 1989).

#### **2.4. Bacterias ácido lácticas**

Aunque las bacterias lácticas tienen características genéticas diversas, en general son microorganismos Gram positivos, no pigmentados, no forman esporas, y no reducen los nitratos, ni producen catalasa. Las bacterias lácticas son anaeróbicas importantes, y se caracterizan también por una

producción de cantidades importantes de ácido láctico como resultado del metabolismo de los hidratos de carbono. Las bacterias lácticas requieren aminoácidos, vitaminas B y otros factores de crecimiento y son incapaces de utilizar hidrato de carbono complejo (Madigan y col., 2000).

La mayoría de las bacterias ácido lácticas obtienen su energía solamente del metabolismo de los azúcares y, por esta razón, su hábitat están restringidos a la presencia de azúcar. Tiene metabolismo biosintético bastante limitado, con lo que requieren medios de cultivo ricos en aminoácidos, vitaminas y pirimidinas. (Broock y col., 2002).

Según el criterio taxonómico genético hay 12 géneros de bacterias lácticas que comprende: *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, etc., de todas ellas normalmente dos se encuentra en los cultivos lácticos iniciadores; *Lactobacillus*, *Streptococcus* (Roberfroid, 2000).

Las bacterias lácticas pueden ser utilizadas en la prevención y el control de determinadas enfermedades, así como en el mejoramiento de la calidad de conservación de ciertos alimentos, por lo que su valor radica en tener a disposición sustancias procedentes de microorganismos que sirvan como punto de partida para la obtención de productos biotecnológicos aplicables a la solución de problemas de la salud tanto humana como animal (Caja y col., 2003).

**Cuadro Nº 01: Microorganismos utilizados como probióticos en los animales y el hombre.**

<b>Lactobacillus</b>	<b>Streptococcus</b>
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Streptococcus cremoris</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Streptococcus faecium</i>
	<i>Streptococcus salivarius</i>
	<i>Streptococcus intestinalis</i>
	<i>Streptococcus lactis</i>
	<i>Streptococcus intermedius</i>

Fuente:( Caja y col., 2003).

#### **Bacterias productoras de ácido láctico**

Se trata de una clase funcional de bacterias fermentadoras no patógenas, no toxigénicas, Gram positivas, caracterizadas por producir ácido láctico a partir de carbohidratos, lo que las hace útiles para la fermentación de alimentos. En este grupo se incluyen las especies de *Lactobacillus*, *Lactococcus*, y *Streptococcus thermophilus* (OMGE; 2008). *Streptococcus faecium* produce ácido láctico, estas bacterias pueden multiplicarse más rápido que las de *Lactobacillus acidophilus* y pueden colonizar en grandes cantidades la mucosa de la pared intestinal, donde muestran su actividad antimicrobiana hacia muchos microorganismos enterotoxigénicos de la pared intestinal, tales como: *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* (Larpent, 2006).

#### **2.5. Identificación bioquímica**

Una especie bacteriana es una colección de cepas que comparten características comunes. El metabolismo bacteriano es un equilibrio dinámico entre biosíntesis y degradación. Las reacciones catabólicas

además de proveer las unidades más pequeñas para los procesos biosintéticos posteriores, provee la energía "para manejar" las reacciones biosintéticas. La capacidad de un microorganismo dado para producir ácidos a partir de una variedad de carbohidratos como maltosa, sacarosa, manitol, inulina, manosa. Refleja la capacidad enzimática de estos microorganismos para convertir inicialmente estos carbohidratos en glucosa, que es el punto de partida tanto para el metabolismo aeróbico de los carbohidratos como anaeróbico. Muchas pruebas empleadas en microbiología involucran la detección de productos finales del metabolismo bacteriano, por medio de indicadores de pH presentes en el medio como cromatografía gas líquido (Koneman, 2001).

Las pruebas bioquímicas consisten en distintos test químicos aplicados a los medios biológicos, los cuáles conocida su reacción, permite identificar distintos microorganismos presentes. Su sistema de funcionamiento generalmente consiste en determinar la actividad de una vía metabólica a partir de un sustrato que se incorpora en medio de cultivo y que la bacteria al crecer incorpora o no (Madigan y col., 2000).

#### **Tinción diferencial de Gram**

La tinción diferencial requiere más de un tipo de colorante y se utiliza para distinguir entre varios tipos de células bacterianas. Una tinción diferencial típicamente consiste de tres pasos principales: primero un colorante primario, el cual se utiliza para teñir a todas las células en la tinción; en seguida un paso de decoloración, el cual remueve el colorante solo de ciertos tipos de células y finalmente un colorante de contraste, el cual tiñe las células recién decoloradas pero no tiene efecto sobre las células que aún retienen el colorante primario.

La tinción propuesta por el médico danés Christian Gramen 1884, es una

de las tinciones diferenciales más utilizadas en bacteriología, que clasifica los cultivos bacterianos en menos de 24 horas en Gram positivas y Gram negativas. La reacción de la tinción de Gram se basa en la cantidad de peptidoglucano que se encuentra en las paredes celulares de estas bacterias. Las bacterias Gram positivas tienen muchas capas de peptidoglucano, las cuales a su vez, sostienen moléculas de ácido teicoico. El ácido teicoico reacciona con el cristal violeta y el yodo utilizado en este proceso de tinción. Un complejo de las moléculas cristal violeta-yodo-ácido teicoico es muy difícil de remover. Como la pared celular de las células Gram positivas retiene estos compuestos, es más difícil decolorar una célula Gram positiva que una Gram negativa. Una mezcla de alcohol remueve el cristal violeta de la célula Gram negativa, pero no de la Gram positiva. Esta mezcla de alcohol también disuelve mucho de la capa exterior de lipopolosacárido de la pared celular de la pared Gram negativa, lo cual acelera la remoción del colorante primario cristal violeta de estas células.

Cuando otro colorante, usualmente safranina, se añade, las células Gram positivas siguen de color azul-violeta mientras que las Gram negativas absorben el color rojizo de la safranina. Al final del procedimiento de tinción, las células Gram positivas serán del color del cristal violeta, o colorante primario, y las células Gram negativas serán del color de la safranina que es el colorante de contraste (Madigan y col 2000).

#### **Prueba de la catalasa**

La catalasa es una enzima que descompone el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) en agua y oxígeno. Es una hemoproteína similar a la hemoglobina excepto que sus cuatro átomos de hierro están en estado oxidado, debido a que el peróxido de hidrógeno se forma como producto final de la

oxidación en el metabolismo aeróbico de hidratos de carbono, si se acumulan resultado letal para la célula, se utiliza en la diferenciación de *Streptococcus* (-), *Staphylococcus* (+), *Bacillus* (+) (Koneman, 2001).

### **Principios bioquímicos**

Cuando las flavoproteínas reducidas a las proteínas con azufre y hierro reducidas se unen con el oxígeno y las oxidasas presentes en la cadena respiratoria de todas las bacterias, se forman dos compuestos tóxicos: el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y el radical superóxido  $O_2^-$ . El  $H_2O_2$  es un producto final oxidativo de la degradación aeróbica de los azúcares. La flavoproteína reducida reacciona de manera directa con el oxígeno gaseoso por vía de la reducción de electrones para formar  $H_2O_2$ , no por acción directa entre el hidrógeno y el oxígeno molecular. Las catalasas, las peroxidasas y la superóxido dismutasas (SOD) eliminan en forma catalítica el anión superóxido: catalasa, el peróxido de hidrógeno. Ambas enzimas son esenciales en la defensa biológica contra la toxicidad del oxígeno (Koneman, 2001).

### **Fermentación de carbohidratos**

Determinar la capacidad de un microorganismo para fermentar un hidrato de carbono específico incorporado en un medio basal y producir ácido.

Los hidratos de carbono están formados por carbono, hidrógeno y oxígeno.

Se clasifican en: monosacáridos; aldehídos polihidroxiados o cetona. A partir de ello se obtiene energía, también realizan funciones de reserva energética (glucógeno) y estructurales como la celulosa. Un monosacárido o azúcar simple por lo común contiene entre 1 a 6 átomos de carbono, la ribosa, ribulosa, xilosa, arabinosa, son azúcares con 5 átomos de carbono y la glucosa, fructuosa, la galactosa, y la manosa son azúcares de 6 átomos de carbonos (MacFaddin, 2003).

Para todos los procesos de fermentación de los hidratos de carbono, se toma una colonia a examinar se adicionará en un tubo con la azúcar a investigar, una coloración amarilla indicara la fermentación de azúcar por este microorganismo y se informara como positivo, sino se presenta cambio será negativo, para la fermentación, en el proceso fermentativo hay producción de ácidos que bajan el pH del medio existiendo una variación de color dada por el indicador rojo de fenol (Carrascal y col., 2003).

### **Microflora de los distintos tramos intestinales**

Los alimentos, una vez ingeridos, recorren un largo camino desde el estomago al recto a través del duodeno, yeyuno e íleon, llegando al colon ascendente, transverso y descendente del intestino grueso. Para muchos microorganismos este largo recorrido constituye un ambiente hostil, donde factores diversos son capaces de evitar o destruir las bacterias indeseables. Entre estos factores se incluyen el jugo gástrico, la bilis, los ácidos grasos, los ácidos orgánicos, la lizosima, los antibióticos y el propio peristaltismo intestinal. De las diversas comunidades microbianas que coloniza el tracto gastrointestinal, unas son indígenas y habitantes permanentes de una determinada región, y otras por el contrario, son transitorias y han sido vehiculadas hasta el intestino por medio del alimento, o bien a través de las propias heces en los coprófagos. La especie numéricamente predominantes en el tracto digestivo son bacterias anaeróbicas grampositivas alcanzan poblaciones importantes (Rodríguez, 1994).

### **Estómago**

En esta área gástrica, la mayoría de los microorganismos probablemente tengan carácter transitorio, si bien ciertas clases de gérmenes se consideran indígenas. Así, algunas especies de *Lactobacillus* llegan a

alcanzar un alto nivel de población ( $10^{10}$ UFC/g de mucosa), En síntesis, puede indicarse que la microflora gástrica de numerosas especies de animales poligástricos está compuesta principalmente por levaduras y bacterias Gram positivos (Rodríguez, 1994).

### **Intestino delgado**

Del mismo modo que en el estómago, la mayor parte de las bacterias presentes en el intestino delgado son transitorias, especialmente en los dos tercios anteriores donde el peristaltismo es más rápido que la velocidad de multiplicación microbiana. Para la mayoría de los autores el número de bacterias en duodeno y yeyuno no excede, normalmente  $10^4$  a  $10^5$  UFC/g de contenido intestinal, con predominio de las especies aerobias-anaerobias facultativas, predominantemente estreptococos. La flora bacteriana del íleon es más abundante,  $10^5$  a  $10^6$  UFC/g de contenido intestinal, existiendo predominio de las especies anaerobias estrictas, principalmente *Bacteroides*, identificándose de modo habitual, estreptococos y enterobacterias. Es probable que los microorganismos que aparecen adheridos al epitelio del íleon distal sean endógenos. Dentro de los gérmenes anaerobios facultativos, las enterobacterias se sitúan en  $10^7$ UFC/g de heces, mientras que estreptococos y lactobacilos se establecen en una proporción de  $10^6$  UFC/g de heces (Rodríguez, 1994).

## **2.6. Aspectos generales de la alpaca**

### **Origen de los camélidos**

Fernández (1991), menciona que los camélidos aparecen en el eocénico tardío, fueron una de las primeras familias de Artiodáctilos (ungulados), de los que fueron seguidos por los cerdos pecaríes y venados durante el oligoceno y por las jirafas, rinocerontes y bóvidos en el mioceno. Pudiendo trazarse el origen de los camélidos mediante los estudios paleontológicos desde el

continente sur americano, en donde apareció el camélido ancestral. En la época de eoceno, hace 25 millones de años los camélidos sufren los cambios evolutivos más importante, tanto morfológicos, etiológicos y locomotrices, dando lugar a formas de camélidos importantes, en el plioceno medio, ésta se había diferenciado en dos géneros: Pleoma y Lama, la primera se extinguió definitivamente y la segunda habría dado origen a los modernos géneros: Lama y vicugna cuyos representantes son los actuales camélidos distribuidos a lo largo de la cordillera de los andes y la llanura de América de sur (Fernández, 1991).

### **2.6.1. Clasificación taxonómica**

Los camélidos sudamericanos exhiben procesos básicos de rumiar, pero se diferencia del suborden pécora (rumiantes) por la morfología del estomago que presenta tres compartimentos. Otras características diferenciales y únicas son: ausencia de cuernos, presencia de caninos separados de los premolares por diastema anatómicamente las piernas traseras les permiten descansar sobre el vientre con las rodillas dobladas y los garrones hacia atrás, además la presencia de una almohadilla digital en lugar de cascos (Wheeler, 1988).

Solis (1997), respecto a la clasificación taxonómica nos proporciona la siguiente:

Reino	:	Animal
Sub-Reino	:	Metazoo
Phyllum	:	Chordata
Sub-Phyllum	:	Vertebratha
Superclase	:	Tetrapoda
Clase	:	Mammalia
Sub clase	:	Eutheria

Orden	:	Artiodactyla
Sub-Orden	:	Tylopoda
Familia	:	Camelidae
Género	:	Lama
Especie	:	<i>pacos</i>
Nombre científico	:	<i>Lama pacos</i>
Nombre vulgar	:	“alpaca”

### **2.6.2. Importancia de los camélidos sudamericanos**

La crianza de alpacas y llamas constituye una actividad económica de gran importancia para un vasto sector de la población alto andina del Perú y Bolivia y, en menor grado en Argentina, Chile y Ecuador. Las familias campesinas de la región andina dependen, directamente, de la actividad económica de la crianza de camélidos sudamericanos; otras tantas familias, también depende indirectamente de esta actividad. En la actualidad se considera a la alpaca como un recurso muy valioso y la especie más rentable por domesticación por su avanzado desarrollo y posibilidad de mejoramiento. La alpaca tiene características que le permiten la adaptación de su organismo a las grandes alturas en su fisiología sanguínea y digestiva que le proporciona ciertas bondades en el mejoramiento de su fibra y carne, además es un animal sumamente rustico, sobrio, con gran eficacia en la conversión alimenticia y un instinto gregario bien desarrollado (San Martín, 1991).

Los camélidos sudamericanos, en particular a la alpaca, es uno de los más significativos, son animales de gran importancia económica, científica, social, ecológica y estratégico; fisiológicamente significa un modelo de adaptación a las condiciones ambientales y nutricionales existentes en grandes altitudes, lugares que constituyen su ambiente natural (Sánchez,

2004).

Se dice que tiene importancia social que miles de familias a nivel nacional fundamentalmente en la región puna, se dedican a la crianza y explotación, constituyendo, prácticamente la única fuente de sustento, ingreso económicos y satisfacción de sus necesidades vitales, también se considera dentro de este rubro la comercialización, la artesanía y la industrialización. La producción de fibra de alpaca es la principal fuente de ingreso económicos para las familias alto andinas del país y en especial de Ayacucho, es distinta a la calidad de fibra obtenida en la zona norte de Ayacucho, es distinta a la calidad de fibra obtenida en Puno, Cuzco o Arequipa; esto repercute directamente en los precios al momento de la venta de fibra, y se expresa en menores ingresos económicos (Sánchez, 2004).

La mortalidad anual de crías pueden llegar a 70% durante los primeros meses de vida; la gran parte de estas muertes están asociadas a los brotes de enterotoxina causado por el *Clostridium perfringens* tipo A. Los brotes epizooticos de esta enfermedad dependen de la existencia de condiciones medioambientales que faciliten la esporulación de la bacteria. En los andes, estos brotes están asociados al uso de corrales sucios durante la época lluviosa, que coincide con la parición (Ramírez, 1988)

### **2.6.3. Distribución geográfica de las alpacas en el Perú**

Bustinza (2001), Indica que las características de crianza de las alpacas y especialmente el hábitat geográfico donde viven, se constituye en algo singular, el manejo de ellas, comparando con otras explotaciones ganaderas en la región de la Sierra, muy especial en lo referente a ganadería alto andinas. La distribución de la población alpaquera en el continente sudamericano se extiende entre los meridianos 65° y 80° de

longitud oeste y entre los paralelos 10° y 22° de Latitud Sur en niveles altimétricos mayores de 3800 m.s.n.m., correspondiéndolo un clima frío. La climatología que caracteriza a dichos lugares es variada, ya que es templada en los valles interandinos, seca y fría en la jalca y muy fría en la puna, llegando incluso a climas nivales en las partes altas de la cordillera. Dada la fisiografía de la zona centro y sur del país, en donde se aprecia la cordillera occidental, la cordillera oriental y los nudos de Pasco, Vilcanota, que originan valles profundos interandinos, valles serranos y mesetas o sábanas en su recorrió, hacen que el país, presente diversas elevaciones que van desde los 2000 hasta los 5000 m.s.n.m., que influyen en la climatología de ellas y precisamente situaciones a la puna, como medio para la crianza de alpacas (Bustinza, 2001).

#### **2.6.4. Población de alpacas en el Perú y en Ayacucho.**

MINAG, 2001. Señala que la población mundial de alpacas llega a los 3.5 millones de cabezas, siendo Perú, el principal productor con aproximadamente el 87%, seguido por Bolivia con el 9.5%. A nivel nacional, (Población Nacional de Alpacas). El Perú cuenta con 3 041 598 cabezas de alpacas, en el año 2001, siendo los principales departamentos productores: Puno (58.5%), Cusco (11.4%), Arequipa (9.4%), Huancavelica (6.8%) y Ayacucho (4.6%).

## **II. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.1. UBICACIÓN.**

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de microbiología del Departamento Académico de Ciencias Biológicas de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, distrito de Ayacucho, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho a 2760 m.s.n.m.

#### **3.1.1. Población:**

100 crías de alpaca raza huacaya.

#### **3.1.2. Muestra:**

10 crías de alpaca raza huacaya.

#### **3.1.3. Unidad de análisis:**

1 ml. del contenido gástrico del intestino delgado (duodeno e íleon).

### **3.2. TIPO DE MUESTREO**

Aleatoria simple.

### **3.3. TOMA DE MUESTRA**

El muestreo se realizó en el ámbito de acción de la Estación Experimental del INIA ubicada en la zona agro ecológica Sierra Tropical Media Alta, en la Zona de Vida: bs – MBS (bosques secos – Montano Bajo Sub Tropical)

del Perú; donde están ubicadas las provincias de Huamanga y Cangallo que se encuentran en el norte del departamento de Ayacucho siendo las comunidades alpaqueras de Ccarhuapampa y Santa Fé; ubicados a una altitud media de 4000 m.s.n.m. Se seleccionó 100 crías de alpaca raza huacaya de las localidades de Ccarhuapampa y Santa Fe, luego al azar 10 crías de alpaca raza huacaya, 5 crías provenientes de la comunidad de Ccarhuapamapa y 5 de crías de la comunidad San Fé, obteniéndose la muestra mediante el raspado de la mucosa del contenido gastrointestinal las cuales fueron trasladadas al laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas. Colocándose en bolsa nueva de polietileno, el rotulado se hizo teniendo en cuenta el lugar, número de muestra y fecha, para su conservación se colocó en un envase de tecnopor.

### **3.4. DISEÑO METODOLÓGICO**

#### **3.4.1. Aislamiento e Identificación de *Streptococcus spp.***

A partir de la muestra obtenida mediante el raspado de la mucosa intestinal específicamente del intestino delgado (duodeno y íleon), se sembró 1 mL. de muestra en caldo lactosado, que es un medio rico en nutrientes, esto permitió el crecimiento y adaptación de las bacterias, se incubó a 37°C por 24 horas. Luego se observó el crecimiento microbiano por la turbidez del caldo lactosado. A partir del caldo lactosado se sembró por el método de siembra por estría en placa en un medio selectivo agar Streptococcus, medio que solo permite el crecimiento de Gram positivas, su selectividad está basada en la acción de azida de sodio y el sulfito que inhibe el crecimiento de Gram negativas y el cristal de violeta hace lo propio con las Gram positivas, incubándose a 37° C por 48 horas. Se seleccionaron las colonias muy pequeñas con bordes netos como gotas de rocío, luego se realizó el repique en cerapios.

Identificación presuntiva, se hizo la prueba de coloración Gram y la prueba catalasa con el fin de diferenciar de otras bacterias Gram positivas. Luego se sembró las colonias en agar sangre para observar el efecto que tiene la cepa sobre el medio, esto nos permitió observar el tipo de hemólisis que puede causar, la que puede ser hemólisis completa (transparencia), hemólisis parcial (coloración verdosa), y gama hemólisis (sin cambio).

Identificación confirmativa, luego de determinar que se trata de un coco Gram positivo y catalasa negativo, se práctico a las cepas presuntas de Streptococcus, la prueba de fermentación de carbohidratos, para lo cual se empleó medio base para fermentación de azúcar, un indicador de pH azul de bromotimol, luego se adicionó al medio base los azúcares en estudio en una concentración final de 0.5% como: inulina, manitol, rafinosa, ribosa, salicina, y sorbitol, se repartió en tubos a razón de 3 ml por tubo, esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos. En caso de la lactosa que es una sustancia que no soporta la temperatura de 121°C, esterilizó el medio base en autoclave y luego se adicionó el azúcar al 10% previa esterilización por filtración, se tomó una colonia a examinar y se adicionó en el tubo con azúcar incubándose a 37°C por 72 horas en condición anaerobiosis. También se aplicó la prueba de crecimiento a temperatura 45°C en caldo lactosado y caldo pH 9.6 para demostrar la capacidad que presenta para desarrollarse, se incubó a 37°C por 72 horas, se interpreta los resultados por la turbidez del medio.

La interpretación de los resultados se obtienen en base al viraje o cambio del color inicial del indicador azul de bromotimol a color amarillo esto indicará la capacidad de fermentación de azúcar por estas bacterias lo cual se denotó como positivo, sino presenta cambio del color inicial del indicador la bacteria no tiene capacidad de fermentación de azúcar por lo

tanto se denotó como negativo, en el proceso de fermentación hay producción de ácido que bajan el pH del medio existiendo una variación de color dada por el indicador azul de bromotimol.

### **3.5. PROCESAMIENTO PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS**

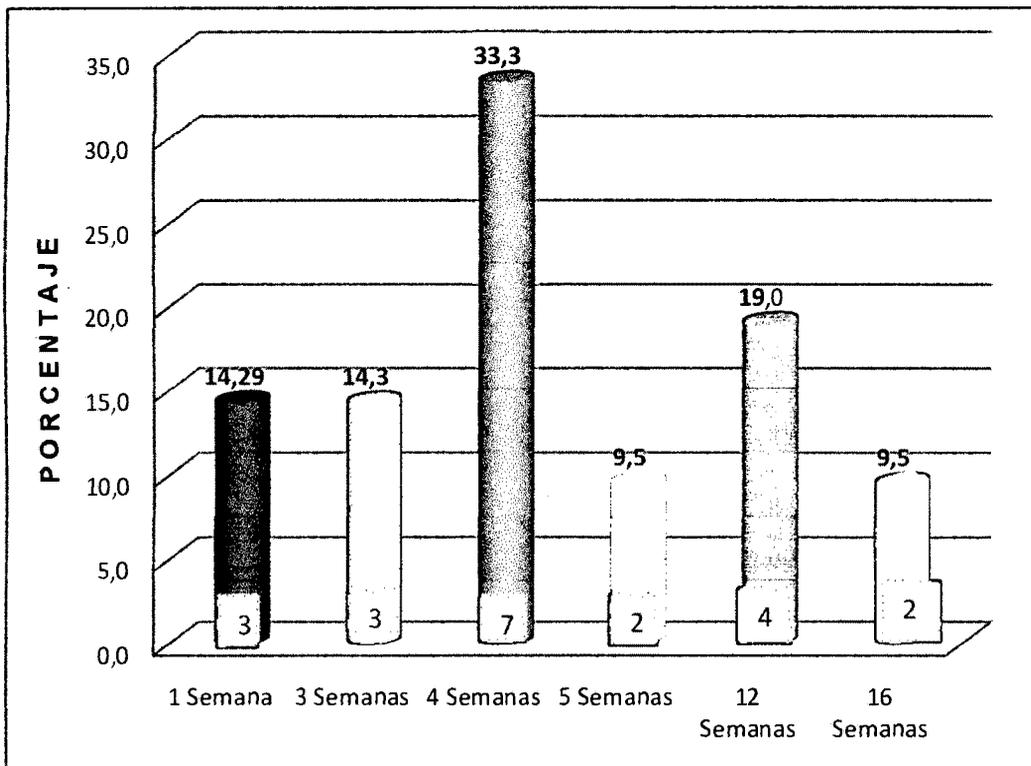
En seguida de la identificación y aislamiento de cepas nativas de *Streptococcus spp.* se anotó las características típicas de las colonias formadas y el número de estas colonias.

A continuación de la identificación se anotó la cantidad de especies de *Streptococcus spp.* halladas, los cuales fueron registrados en una ficha de recolección de datos.

### **3.6. CUADROS ESTADÍSTICOS**

Los resultados obtenidos fueron tabulados y representados en cuadros estadísticos de frecuencia porcentual.

## **VI. RESULTADOS**



**Gráfico Nº 01:** Porcentaje promedio de número de cepas aisladas del contenido gastrointestinal de las crías de alpaca a partir de las 10 muestras según edad, para la identificación de *Streptococcus spp.* INIA -Ayacucho, 2009.

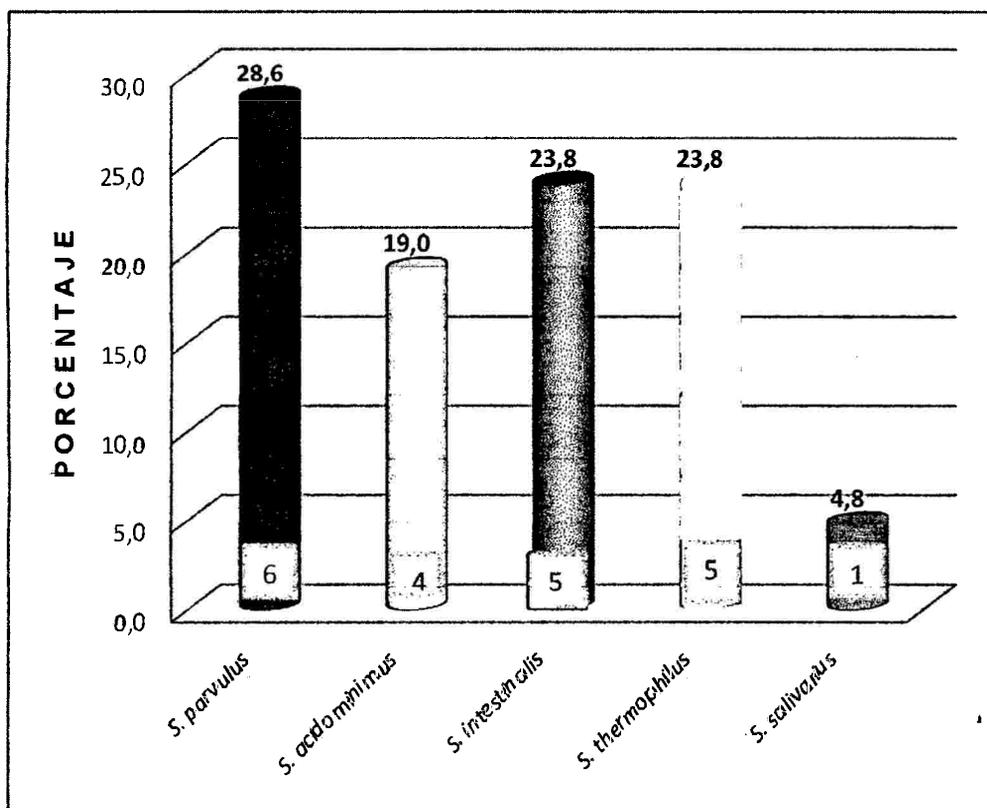


Gráfico N° 02: Porcentaje promedio de especies de *Streptococcus* spp. Identificadas a partir de 21 cepas aisladas del contenido gastrointestinal de crías de *Lamas pacos*, "alpaca" INIA -Ayacucho, 2009.

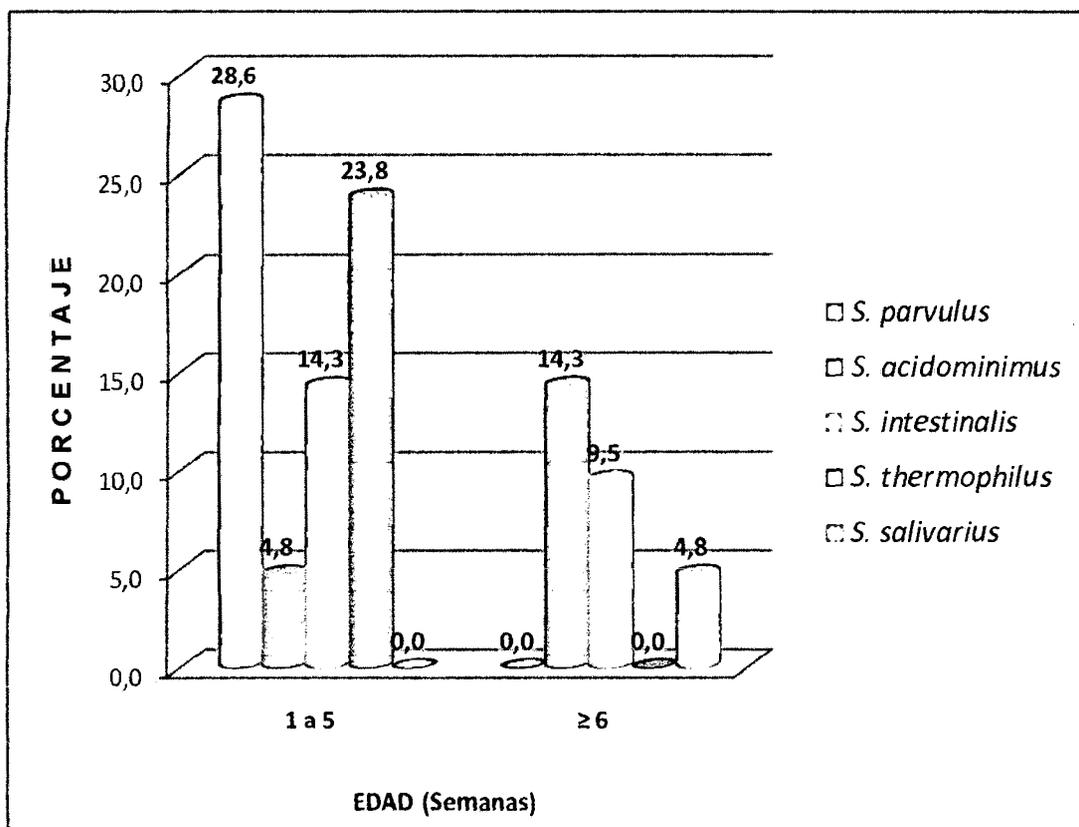
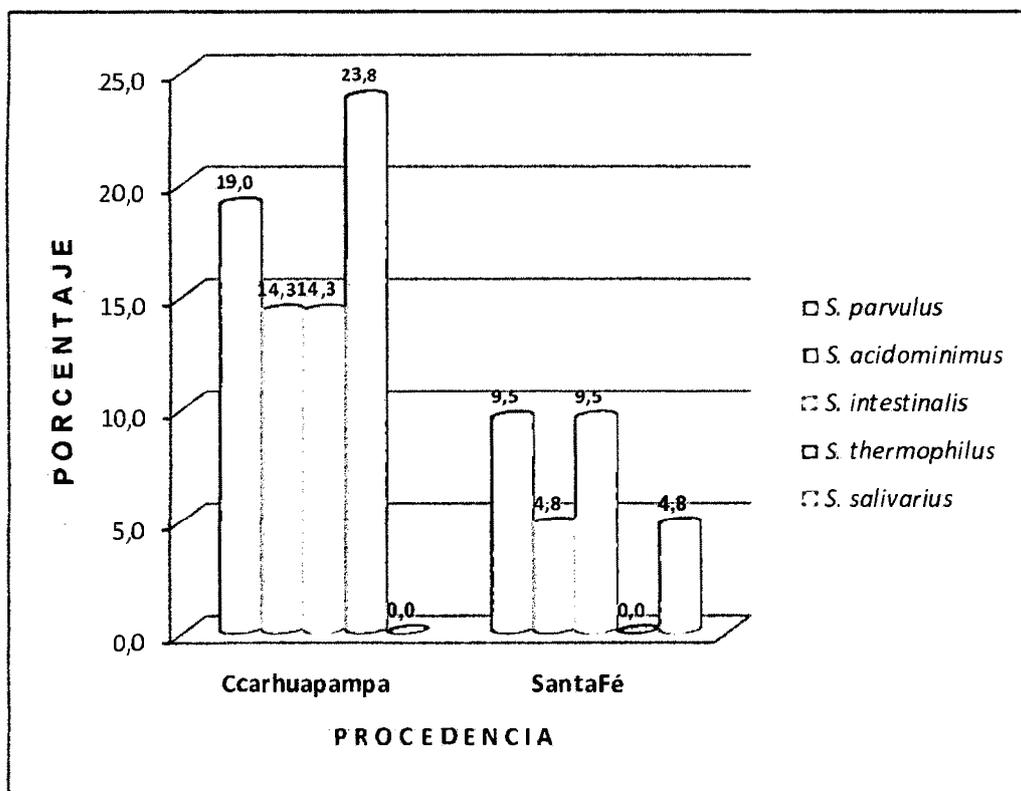


Gráfico Nº 03: Porcentaje promedio de especies de *Streptococcus* aisladas del contenido gastrointestinal de crías de *Lamas pacos*, "alpaca" según edad INIA - Ayacucho, 2009.



**Gráfico N° 04:** Porcentaje promedio de especies de *Streptococcus* aisladas del contenido gastrointestinal de crías de *Lamas pacos* "alpaca", según procedencia. INIA - Ayacucho, 2009.

## V. DISCUSIÓN

En el gráfico N° 01 se observa número de cepas aisladas a partir de las 10 muestras de crías de alpaca raza huacaya, para la identificación de *Streptococcus spp* en el contenido gastrointestinal. INIA - Ayacucho, 2009., hallándose mayor número de cepas de *Streptococcus spp*. En muestras de 4 semanas de edad, con un porcentaje de 33.3%, 12 semanas de edad con un 19%, 1 y 3 semana de edad 14.3%. Finalmente de 5 y 16 semanas de edad 9.5% respectivamente. Respecto al desarrollo pos natal de los preestómagos y el estómago, San Martín, (1991), señala que cerca de las 8 semanas de edad la porción tisular de los compartimentos es similar a las alpacas adultas. Por otra parte, el mismo autor indica que la actividad microbiana de estos animales es significativa en 12 semanas de edad, lo cual se relaciona con una disminución de los niveles de glucosa en la sangre y un incremento de la producción de ácidos grasos volátiles y una disminución de pH del rumen retículo.

Por otro lado, el primer contacto con dietas forrajeras también marcará la futura carga microbiana del sistema digestivo de las alpacas, presentándose al final de su adaptación  $10^{10}$  y  $10^{11}$  bacterias/ml de contenido ruminal, no especificándose la cantidad de protozoos y hongos (Aquino, 2004).

En el gráfico N° 02, observamos la frecuencia especies de *Streptococcus* identificadas a partir de 21 cepas puras aisladas del contenido gastrointestinal

de crías de “alpaca”, donde el 28.6% son *Streptococcus parvulus*, 23.9% *Streptococcus intestinalis* y *Streptococcus tharmophilus*, 19% *Streptococcus acidominimus* y con 4.8% *Streptococcus salivarius* respectivamente.

Según Fox, (1988), menciona que los microorganismos que predominan en el contenido intestinal son bacterias anaerobias facultativas, como eubacterias, peptococos, lactobacilos, y bifidobacterias. En segundo lugar en abundancia se encuentra *Streptococcus*. La microbiota incluye organismos sacarolíticos y proteolíticos. Si se consideran solamente las regiones anatómicas el duodeno es la zona de menor contenido, no más de  $10^4$  UFC/g de contenido rumial, seguido del yeyuno, el íleon son las zonas con mayor contenido, superior a  $10^{11}$  UFC/g de contenido rumial.

Según Aquino, (2004), refiere que la microbiota frecuente en el sistema digestivo de la alpaca generalmente está constituido por *Streptococcus spp.* (15.2%), *Lactobacillus vitulinus* (12.1%), *Prevotella ruminicola* (8.2%), *Lactobacillus ruminus* (6.5%).

Rodríguez (2000), cita que los camélidos sudamericanos difieren en la composición de microorganismos presentes en su sistema digestivo, presentándose en frecuencia variables *Streptococcus thermophilus* (12.1%), *Streptococcus intestinalis* (11.1%), *Streptococcus salivarius* (6.4%), resultados que difieren a los hallados en esta investigación.

En el gráfico N° 03, se muestra la frecuencia de especies de *Streptococcus* aislados del contenido gastrointestinal de crías de “alpaca” raza huacaya según la edad, hallándose una menor frecuencia de *Streptococcus salivarium* con solo 1 caso (4.8%), mientras que el resto de especies presentan entre 6 a 5 casos, con porcentajes que van desde 28.6% a 23.8 %. Así mismo, *Streptococcus parvulus* se hallan en mayor frecuencia en crías de alpacas de 1 a 5 semanas en comparación con las de mayor edad. También resalta el hecho de que en forma

general los porcentajes de presencia de las especies de *Streptococcus* disminuyen, incluso llegan a desaparecer en 12 y 16 semanas de edad como *Streptococcus parvulus*, *Streptococcus thermophilus*, en el caso de *Streptococcus salivarius* recién aparece en crías de alpaca de 5 semanas edad. La variación de microorganismos del sistema digestivo está en relación a la edad, lugar y tipo de crianza de la "alpaca", presentándose una variada diferencia entre animales de dos semanas de nacido a mayores o iguales a las tres semanas de nacido ( $P < 0.05$ ), presentándose una población general de bacterias  $10^2$  a  $10^4$  bacterias/ml en las dos primeras semanas de nacido a  $10^6$  a  $10^{10}$  al final de las tres semanas de nacido (De la Cruz, 2008).

Por otro lado, Aquino (2004), refiere que las bacterias presentes en el sistema digestivo desde los primeros días de vida de la alpaca, varían desde la 1-3 semanas de edad, siendo diferentes a los animales adultos; aproximadamente en la semana 8 ya son más parecidas y entre las semanas 9 a 17 las bacterias predominantes son las típicas de los animales adultos, manifestándose mayor riesgo de morir en las primeras semanas de vida por bacterias patógenas.

Según De la Cruz, (2008) y Aquino, (2004), el primer día de vida colonizan el sistema digestivo de las alpacas bacterias aeróbicas o anaeróbicas facultativas como varias especies de estreptococos y lactobacilos, por ello la variedad hallada en esta investigación es *Streptococcus*. Después se produce la colonización secuencial por grupos funcionales: las primeras son las bacterias amilolíticas, alcanzando un número constante a los 3 días de edad; después colonizan las bacterias incluidas dentro de los grupos reductoras de sulfato, utilizadoras de lactato (producido por las amilolíticas), fermentadoras de xilano y fermentadoras de pectina; las celulolíticas necesitan nutrientes producidos por los grupos bacterianos anteriores, por lo que colonizan el rumen a los 3-5 días de edad. En último lugar se produce la colonización de las metanogénicas que

tienen una relación simbiótica con las bacterias celulolíticas.

Sánchez, (2004). Aunque las poblaciones microbianas estén presentes en el sistema digestivo desde los primeros días de vida, será la presencia de alimento fermentable y el lugar de crianza lo que active la actividad microbiológica y pocos días consumiendo alimento sólido son suficientes para aumentar significativamente la capacidad fermentativa del rumen. Por ello la variación de microorganismos aislados en las crías de "alpaca".

En el grafico N° 04, referido a la frecuencia de especies de *Streptococcus* aisladas del contenido gastrointestinal de crías de *Lama pacos* "alpaca" raza huacaya, según procedencia. Se muestra que el mayor porcentaje de *Streptococcus* aislados fueron en crías de "alpaca" raza huacaya, provenientes de los rebaños de la comunidad de Ccahuapampa con excepción de *Streptococcus salivarius* que solo aparece en los rebaños de la comunidad Santa Fe. En crías de alpacas raza huacaya provenientes de la comunidad Ccahuapampa con mayor frecuencia es *Streptococcus thermophilus* (23.8%), seguida de *Streptococcus parvulus* (19%), *Streptococcus acidominimus* y *Streptococcus intestinales* con 14.3%, mientras de comunidad Santa Fe es *Streptococcus parvulus* y *Streptococcus intestinalis* con un 9.5%. Finalmente *Streptococcus salivarius* con 4.8%.

La influencia del lugar de crianza sobre las especies bacterianas del sistema digestivo de las "alpacas" se explica, debido a que las bacterias celulíticas y otras variedades son las primeras en colonizar la estructura vegetal, transmitiéndose estos por consumo directo, por ello la variación que podría hallarse en las alpacas de las diferentes localidades y edades (Rodríguez, 2000). Esta adhesión de las bacterias a los vegetales puede ser uniones específicas con adhesinas (moléculas de la superficie microbiana que se une a receptores del material vegetal), o uniones inespecíficas con enlaces iónicos (Cerde, 2004).

Por ello la importancia de realizar las pruebas de identificación bacteriana, ya que mediante ellas se pueden identificar adecuadamente las especies de bacterias que colonizan el sistema digestivo de las alpacas, identificando las bacterias benéficas de las patógenas. El uso de microorganismos autóctonos con capacidad probiótica es una alternativa terapéutica para el tratamiento y prevención de algunas patologías animales. En caso de las afecciones gastrointestinales de los animales jóvenes su utilización puede prevenir su colonización del tubo digestivo por patógenos, estimular el desarrollo del sistema inmunológico.

## VI. CONCLUSIONES

1. Se identificó cinco especies del género *Streptococcus* siendo en mayor porcentaje la especie de *Streptococcus parvulus* con 28.6%, seguido de las especies de *Streptococcus intestinalis* y *Streptococcus thermophilus* con 23.8%, *Streptococcus acidominimus* 19% y *Streptococcus salivarius* con 4.8% de crías de alpaca raza huacaya.
2. La mayor cantidad de especies de *Streptococcus* aisladas fueron en "alpacas" raza huacaya con edades de 1 a 5 semanas de edad, siendo el 28.6% de *Streptococcus parvulus* y 23.8% de *Streptococcus thermophilus*, con menor frecuencia de *Streptococcus salivarium* con solo 1 caso (4.8%), mientras que el resto de especies presentan entre 6 a 5 casos, con porcentajes que van desde 28.6% a 23.8 %. Así mismo, *Streptococcus parvulus* se hallan en mayor frecuencia en crías de alpacas de 1 a 5 semanas en comparación con las de mayor edad. También resalta el hecho de que en forma general los porcentajes de presencia de las especies de *Streptococcus* disminuyen, 12 y 16 semanas de edad como *Streptococcus parvulus* y *Streptococcus thermophilus*.
3. La especie más frecuente de acuerdo a la procedencia fue *Streptococcus parvulus* (19.0%), Se muestra que el mayor porcentaje de *Streptococcus* aislados fueron en crías de "alpaca" raza huacaya, provenientes de los

rebaños de la comunidad de Ccahuapampa con excepción de *Streptococcus salivarius* que solo aparece en los rebaños de la comunidad Santa Fe. En crías de alpacas raza huacaya, provenientes de la comunidad Ccahuapampa con mayor frecuencia es *Streptococcus thermophilus* (23.8%), seguida de *Streptococcus parvulus* (19%), *Streptococcus acidominimus* y *Streptococcus intestinales* con 14.3%, mientras de comunidad Santa Fe es *Streptococcus parvulus* y *Streptococcus intestinalis* con un 9.5%. Finalmente *Streptococcus salivarius* con 4.8%.

## VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar investigaciones referidas al tema con la finalidad de identificar y aislar bacterias benéficas del sistema digestivo de la "alpaca", debido a que existe un elevado porcentaje de mortandad en las primeras semanas de vida de estos animales.
2. Realizar investigaciones referidas a la producción de bacterias con actividad probiótica aisladas del sistema digestivo de crías de "alpacas" que superaron las 10 primeras semanas de vida, ya que ellos están adaptados para resistir a la carga microbiana presente en los alimentos.
3. Realizar el estudio de la microflora del contenido gastrointestinal de crías de alpaca, tomando en cuenta las zonas anatómicas del intestino.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Ango, H. 2002.** Guía de práctica de Bioseguridad, desinfección, esterilización. UNSCH. Ayacucho. Per.
2. **Aquino, N. 2004.** Características generales del sistema digestivo del *Lama pacos* "alpaca". Monografía. Universidad Autónoma Gabriel Rene Moreno. Facultad de Veterinaria y Zootecnia. Bolivia.
3. **Brooks, G., Butel, J., Morse, S. 2002.** Microbiología Médica de Jawetz. Melnick y Adelberg, 17ª Edición. Editorial el Manual Moderno S.A. México.
4. **Bustinza, V. 2001.** La Alpaca, Crianza, Manejo y Mejoramiento. Primera Edición. Oficina de Recursos del Aprendizaje, Sección Publicaciones. UNA-Puno.
5. **Chesson, A. y Forsberg, C. 1997.** Polysaccharide degradation by rumen microorganisms. In: Hobson, P. AndStewart, C. The Microbial Ecosystem, segunda edición. Editorial. Chapman. Hall Ltd, Andover, UK, pp 329-381 (22/05/09).
6. **Camacho, C. 1999.** Revista científica Enfermedades entéricas en los cerdos, Mundo avícola y porcino. Pp 39-42. (01/02/10)
7. **Carrascal, A., Páez, A. y Burbano, M. 2003.** Manual de laboratorio: microbiología de alimentos, 8ª Edición. Editorial Javeriano. Bogotá, Colombia.
8. **Caja, E., González, C., Flores, M., Carro. 2003.** Grupo de Investigación en Rumiantes, Universidad Autónoma de Barcelona Departamento de Producción Animal, Universidad de León.
9. **Cerda, A. 2004.** Fermentación ruminal, degradación proteica y sincronización energía-proteína. Universidad Autónoma de Barcelona. Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos. Facultad de Veterinaria.
10. **Concejo Nacional de Camélidos Sudamericanos (CONACS) –MINAG,** Folleto de crianza de Alpaca. Lima Perú, 2001.
11. **De la cruz, M. 2008.** Sistema digestivo del *Lama pacos* "alpaca". Monografía. Universidad Autónoma Gabriel Rene Moreno. Facultad de Veterinaria y Zootecnia. Bolivia.
12. **Fernández, S. 1991.** Avances y Perspectivas del Conocimiento de los "Camelidos Sudamericanos" Oficina Regional de Producción Animal Santiago de Chile. Chile.

13. **Freeman, B. 1989.** *Microbiología de Burrows*, 22ª Edición. Editorial medica panamericana Buenos Aires, Argentina.
14. **Forsberg, C., Cheng, k. y Phillips, J. 1993.** Establishment of rumen microbial gene pools and their manipulation to benefifit fibre digestion by domestic animals. *Procceedings VII World Conferense on Animal Production*, pp.281-316. World Association for Animal Poduction, Edmonton.
15. **Fox, S. 1988.** Probiotics: intestinal inoculants for production animal. *Veterinary Medicine* 83, 8, 802-8010.
16. **Fuller, R. 1989.** Probiotics in man animals. *J. Appl. Bacteriol. Aspects*, R. Fuller Editorial. Londres, chapman Pp 1-9.
17. **Fuller, R. 1997.** Introduction. En: *probiotics: 2. Aplicacions and practical Aspects*, R. Fuller Editorial. Londres, chapman Pp 1-9.
18. **Jawetz, E., Melnick, J., Adalberg, E. 2006.** *Microbiologia Médica*. 14ª. Edición. Edit. Ciencias médicas. Ciudad de La Habana. pp.213-221.
19. **Hardie, J. 1992.** Genus *Streptococcus* Rosenbach 1884, *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Vol2)*. Ed. P. HA. Sneath, Williams & Wilkins, Baltimore, USA, Pp. 1043-1047.
20. **Kandler, O. y Weiss, N. 1992.** Regular non-sporing, Gram-positive rods. in *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Ed. P. Sneath, Baltimore, Williams & Wilkins, Pp. 1209-1 234.
21. **Koneman, E. 2001.** *Diagnóstico microbiológico: texto y atlas de color* .5ta. Edición, Editorial Medica Panamericana, Buenos Aires, Argentina
22. **Larpent, J. 2006.** "Las bacterias lacticas". Departamento de Microbiología Alimentaria. Universidad de Navarra. España.
23. **MacFADDIN J. 2003.** *Pruebas Bioquímica para identificación de bacterias de importancia clinica*. Tercera edición, Editorial Medica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.
24. **Madigan, M., Martinko, J., Parker, J. 2000.** *Brock Biología de los Microorganismos*. 8ª Edición. Editorial Printice Hall. Madrid, España.
25. **Mateos, R. 1990.** El factor de transferencia como biológico en la inmunoterapia de becerros lactantes clínicamente enfermos (tesis de licenciatura). México DF. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM.

26. **Martínez, P. 1995.** Características relevantes de los principales géneros bacterianos de interés en medicina veterinaria. Facultad de MVZ.UNAM. 13 p.
27. **Organización. Mundial de Gastroenterología (OMGE).** Guías prácticas Probióticos y prebióticos Mayo de 2008.
28. **Ramírez, A. 1988.** Enfermedades infecciosas en Alpacas y Llamas. Producción de Rumiantes menores. Editores Novoa C. y Flores, A. Convenio Universidad de California. Davis-INIA-Lima, Perú.
29. **Rodríguez, M. 1994.** Bacterias productoras de ácido láctico: efecto sobre el crecimiento y flora intestinal". Tesis doctoral. Madrid.1994. (22/09/10).
30. **Rodríguez, R. 2000.** Sistema digestivo de camélidos sudamericanos. Monografía. Universidad Nacional del Altiplano. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.20/09/09
31. **Roberfroid, M. 2000.** El rol de los probióticos en la alimentación humana. Nutrición. Nestlé. Año 2. No 3. 2000. P6-11.25/05/09
32. **Rojas, N. 2006.** Bacteriología diagnóstica. Universidad de Costa Rica. Facultad de Microbiología.
33. **Sánchez, N. 2004.** Inmunidad materna transmitida a crías de *Lama pacos* "alpaca" bajo dos sistemas de crianza: Estabulado y Semiestabulados. Universidad Autónoma Gabriel Rene Moreno. Facultad de Veterinaria y Zootecnia. Bolivia
34. **Smart Microbials INC. 2005.** 800N.Twin Oaks Valley, Suite101.San Marcos, CA92069.
35. **San Martín, F. 1991** Nutrición y Alimentación de Alpacas y Llamas" Producción de Rumiantes Menores-Alpaca. Editorial. Novoa C. y Flores, A. Convenio Universidad de California. Davis-INIA-Lima, Perú.
36. **Solis, R. 1997.** Producción de Camélidos Sudamericanos Imprenta Rios, S.A. Huancayo, Perú. 21/09/10
37. **Torres, M. 2002.** Flora intestinal. Probióticos y salud. Segunda Edición, México D.F. Editorial Grafica Nueva, Editora de las Universidades Iberoamericanas.
38. **Wheeler, J. 1988.** La Domesticación de la alpaca (*Lama pacos*) y la llama (*Lama glama*) y el desarrollo Temprano de la Ganadería Autoctona en los Andes Centrales" Boletín de Lima.36:74-84.

## **ANEXOS**

Cuadro N° 02: Cepas de *Streptococcus spp.*, identificadas según dos tipos de pruebas del contenido gastrointestinal de las crías de Lama pacos "alpaca" INIA. Ayacucho, 2009

N° de ceparios	PRUEBAS PRESUNTIVAS					PRUEBAS BIOQUIMICAS										ESPECIES DE Streptococos
	A	B	C	Coloración Gram	Catalasa	$\beta$ hemólisis	Inulina	Lactosa	Manitol	Rafinosa	Ribosa	Salicina	Sorbitol			
A1	-	+	-	Positivo	Negativo	-	-	+	-	-	+	-	-	-	<i>S. thermophilus</i>	
A2	-	+	+	Positivo	Negativo	-	-	+	-	-	-	+	-	-	<i>S. parvulus</i>	
A3	-	+	+	Positivo	Negativo	-	-	+	-	-	+	+	-	-	<i>S. parvulus</i>	
A4	-	+	-	Positivo	Negativo	-	-	+	-	-	+	+	-	-	<i>S. thermophilus</i>	
A5	(-)	+	-	Positivo	Negativo	-	+	+	-	-	-	+	-	-	<i>S. parvulus</i>	
A6	+	-	-	Positivo	Negativo	-	+	+	-	-	+	+	-	-	<i>S.</i>	
A7	-	+	-	Positivo	Negativo	-	-	+	-	-	+	-	-	-	<i>S. thermophilus</i>	
A8	+	-	-	Positivo	Negativo	-	(-)	-	-	-	+	-	-	-	<i>S. intestinalis</i>	
A9	+	-	-	Positivo	Negativo	+	(+)	-	-	-	-	+	-	-	<i>S. intestinalis</i>	
A10	+	-	-	Positivo	Negativo	+	(+)	-	-	-	-	+	-	-	<i>S. intestinalis</i>	
A11	+	-	-	Positivo	Negativo	+	-	-	-	-	-	+	-	-	<i>S. intestinalis</i>	
A12	+	-	-	Positivo	Negativo	+	+	-	-	-	-	+	-	-	<i>S. intestinalis</i>	
A13	-	+	-	Positivo	Negativo	-	-	+	-	-	+	-	-	-	<i>S. thermophilus</i>	
A14	(+)	+	-	Positivo	Negativo	-	+	+	-	-	-	+	-	-	<i>S. parvulus</i>	
A15	-	+	-	Positivo	Negativo	-	-	+	-	-	+	-	-	-	<i>S. thermophilus</i>	
A16	-	+	(+)	Positivo	Negativo	-	+	+	-	-	-	+	-	-	<i>S. parvulus</i>	
A17	-	-	(+)	Positivo	Negativo	-	+	+	-	-	-	+	-	-	<i>S. parvulus</i>	
A18	+	(+)	-	Positivo	Negativo	-	+	(+)	-	-	+	+	-	-	<i>S. salivarius</i>	
A19	+	-	-	Positivo	Negativo	-	-	+	-	-	-	+	+	-	<i>S.</i>	
A20	+	-	-	Positivo	Negativo	-	+	+	-	-	-	+	+	-	<i>S.</i>	
A21	+	-	-	Positivos	Negativo	-	-	+	-	-	-	+	+	-	<i>S.</i>	

A = Crecimiento Anaerobica

C=Crecimiento a un Ph 9.6

B = Crecimiento a 45 C°

## ANEXON°02

**Cuadro N° 03:** Resultados del porcentaje promedio de número de cepas aisladas a partir de las 10 muestras de crías de alpaca, para la identificación de *Streptococcus spp* en el contenido gastrointestinal. INIA - Ayacucho, 2009.

Edad (Semanas)	Nº de cepas puras	%
1	3	14.3
3	3	14.3
4	7	33.3
5	2	9.5
12	4	19.0
16	2	9.5
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>100.0</b>

### ANEXO N°03

**Cuadro N° 04:** Resultados del porcentaje promedio de especies de *Streptococcus* identificadas a partir de 21 cepas aisladas del contenido gastrointestinal de crías de *Lama paco* "alpaca" INIA - Ayacucho, 2009.

<b>Especie de <i>Streptococcus</i></b>	<b>N°especies</b>	<b>%</b>
<i>Streptococcus parvulus</i>	6	28.6
<i>Streptococcus acidominimus</i>	4	19.0
<i>Streptococcus intestinalis</i>	5	23.8
<i>Streptococcus thermophilus</i>	5	23.8
<i>Streptococcus salivarius</i>	1	4.8
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>100.0</b>

#### ANEXON°04

**Cuadro N° 05:** Resultados del porcentaje promedio de especies de *Streptococcus* aisladas del contenido gastrointestinal de *Lama pacos*, "alpaca" según la edad, INIA. Ayacucho, 2009.

Especies de <i>Streptococcus</i>	EDAD (Semanas)				TOTAL	
	1 a 5		≥ 6			
	N°	%	N°	%	N°	%
<i>Streptococcus parvulus</i>	6	28.6	0	0.0	6	28.6
<i>Streptococcus acidominimus</i>	1	4.8	3	14.3	4	19.0
<i>Streptococcus intestinalis</i>	3	14.3	2	9.5	5	23.8
<i>Streptococcus thermophilus</i>	5	23.8	0	0.0	5	23.8
<i>Streptococcus salivarius</i>	0	0.0	1	4.8	1	4.8
<b>Total</b>	<b>15</b>	<b>71.4</b>	<b>6</b>	<b>28.6</b>	<b>21</b>	<b>100.0</b>

### ANEXO N°05

**Cuadro N° 06:** Resultados del porcentaje promedio de especies de *Streptococcus* aisladas del contenido gastrointestinal de *Lama pacos*, "alpaca" según la procedencia. INIA – Ayacucho, 2009.

Especies de <i>Streptococcus</i>	Procedencia				TOTAL	
	Ccarhuapam		Santa Fé			
	N°	%	N°	%	N°	%
<i>Streptococcus parvulus</i>	4	19.0	2	9.5	6	28.6
<i>Streptococcus acidominimus</i>	3	14.3	1	4.8	4	19.0
<i>Streptococcus intestinalis</i>	3	14.3	2	9.5	5	23.8
<i>Streptococcus thermophilus</i>	5	23.8	0	0.0	5	23.8
<i>Streptococcus salivarius</i>	0	0.0	1	4.8	1	4.8
<b>Total</b>	<b>15</b>	<b>71.4</b>	<b>6</b>	<b>28.6</b>	<b>21</b>	<b>100.0</b>

ANEXO N° 06

Cuadro N° 07: Resultado de la prueba de  $\beta$  hemolisis e inulina sometidos a especies de *Streptococcus* aisladas del contenido gastrointestinal de *Lama pacos*. "alpaca" INIA - Ayacucho, 2009.

Especie bacteriana	Prueba $\beta$ hemolisis			Total			Prueba de inulina						Total			
	-		+	-		(+)	-		(+)	-		+	Total			
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%		
<i>Streptococcus parvulus</i>	4	19.0	0	0.0	4	19.0	2	9.5	0	0.0	0	0.0	2	9.5	4	19.0
<i>Streptococcus acidominimus</i>	1	4.8	4	19.0	5	23.8	1	4.8	1	4.8	2	9.5	1	4.8	5	23.8
<i>Streptococcus intestinalis</i>	6	28.6	0	0.0	6	28.6	2	9.5	0	0.0	0	0.0	4	19.0	6	28.6
<i>Streptococcus salivarius</i>	1	4.8	0	0.0	1	4.8	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	4.8	1	4.8
<i>Streptococcus thermophilus</i>	5	23.8	0	0.0	5	23.8	5	23.8	0	0.0	0	0.0	0	0.0	5	23.8
Total	17	81.0	4	19.0	21	100.0	10	47.6	1	4.8	2	9.5	8	38.1	21	100.0

ANEXO N° 07

Cuadro N° 8: Resultado de la prueba de lactosa y manitol sometidos a especies de *Streptococcus* aisladas del contenido gastrointestinal de *Lama pacos*. "alpaca" INIA - Ayacucho, 2009.

Especie bacteriana	Prueba de Lactosa						Total			Prueba de Manitol						Total	
	-			(+)			+			-			+			N°	%
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%			
<i>Streptococcus acidominimus</i>	0	0.0	0	0.0	4	19.0	4	19.0	1	4.8	3	14.3	4	19.0			
<i>Streptococcus intestinalis</i>	5	23.8	0	0.0	0	0.0	5	23.8	5	23.8	0	0.0	5	23.8			
<i>Streptococcus parvulus</i>	0	0.0	0	0.0	6	28.6	6	28.6	6	28.6	0	0.0	6	28.6			
<i>Streptococcus salivarius</i>	0	0.0	1	4.8	0	0.0	1	4.8	1	4.8	0	0.0	1	4.8			
<i>Streptococcus thermophilus</i>	0	0.0	0	0.0	5	23.8	5	23.8	5	23.8	0	0.0	5	23.8			
<b>Total</b>	<b>5</b>	<b>23.8</b>	<b>1</b>	<b>4.8</b>	<b>15</b>	<b>71.4</b>	<b>21</b>	<b>100.0</b>	<b>18</b>	<b>85.7</b>	<b>3</b>	<b>14.3</b>	<b>21</b>	<b>100.0</b>			

ANEXO N° 08

Cuadro N° 9: Resultado de la prueba de rafinosa y ribosa sometidos a especies de *Streptococcus* aisladas del contenido gastrointestinal de *Lama pacos*. "alpaca" INIA - Ayacucho, 2009.

Especie bacteriana	Prueba de Rafinosa			Total			Prueba de Ribosa							
	-			+			-			+			Total	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
<i>Streptococcus acidominimus</i>	4	19.0	0	0.0	4	19.0	3	14.3	1	4.8	4	19.0		
<i>Streptococcus Intestinalis</i>	5	23.8	0	0.0	5	23.8	4	19.0	1	4.8	5	23.8		
<i>Streptococcus parvulus</i>	6	28.6	0	0.0	6	28.6	5	23.8	1	4.8	6	28.6		
<i>Streptococcus salivarius</i>	0	0.0	1	4.8	1	4.8	0	0.0	1	4.8	1	4.8		
<i>Streptococcus thermophilus</i>	5	23.8	0	0.0	5	23.8	0	0.0	5	23.8	5	23.8		
<b>Total</b>	<b>20</b>	<b>95.2</b>	<b>1</b>	<b>4.8</b>	<b>21</b>	<b>100.0</b>	<b>12</b>	<b>57.1</b>	<b>9</b>	<b>42.9</b>	<b>21</b>	<b>100.0</b>	<b>21</b>	<b>100.0</b>

ANEXO N° 09

Cuadro N°10: Resultado de la prueba de salicina y sorbitol sometidos a especies de Streptococcus aisladas del contenido gastrointestinal de Lama pacos. "alpaca" INIA - Ayacucho, 2009.

Especie bacteriana	Prueba de Salicina			Total			Prueba de Sorbitol			Total		
	-		+	-		+	-		+	-		+
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
<i>Streptococcus acidominimus</i>	0	0.0	4	19.0	4	19.0	1	4.8	3	14.3	4	19.0
<i>Streptococcus intestinalis</i>	1	4.8	4	19.0	5	23.8	5	23.8	0	0.0	5	23.8
<i>Streptococcus parvulus</i>	0	0.0	6	28.6	6	28.6	6	28.6	0	0.0	6	28.6
<i>Streptococcus salivarius</i>	0	0.0	1	4.8	1	4.8	1	4.8	0	0.0	1	4.8
<i>Streptococcus thermophilus</i>	4	19.0	1	4.8	5	23.8	5	23.8	0	0.0	5	23.8
<b>Total</b>	<b>5</b>	<b>23.8</b>	<b>16</b>	<b>76.2</b>	<b>21</b>	<b>100.0</b>	<b>18</b>	<b>85.7</b>	<b>3</b>	<b>14.3</b>	<b>21</b>	<b>100.0</b>

## ANEXO N°10



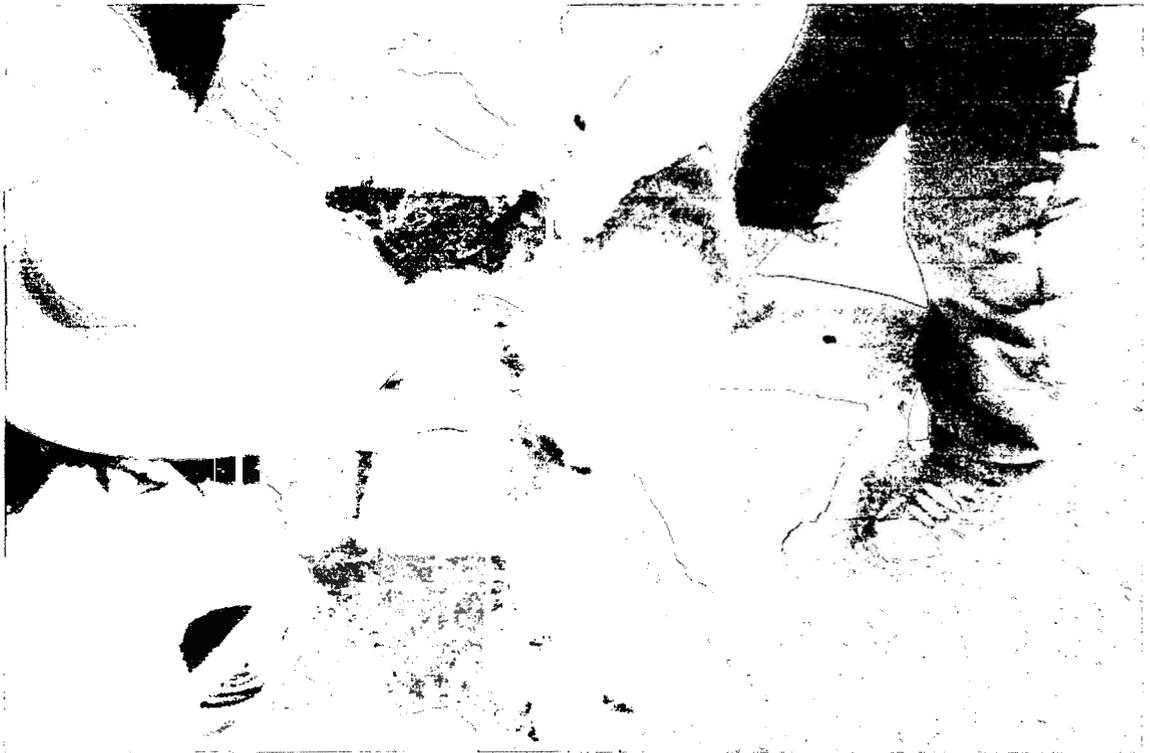
**Fotografía N° 01.** Responsable del trabajo de investigación junto al Rebaño de alpacas en la comunidad de Ccarhuapampa. Ayacucho, 2010.

**ANEXO N°11**



**Fotografía N° 02.** Rebaño de alpaca de la comunidad de Santa Fe. Ayacucho, 2010.

**ANEXO N°12**



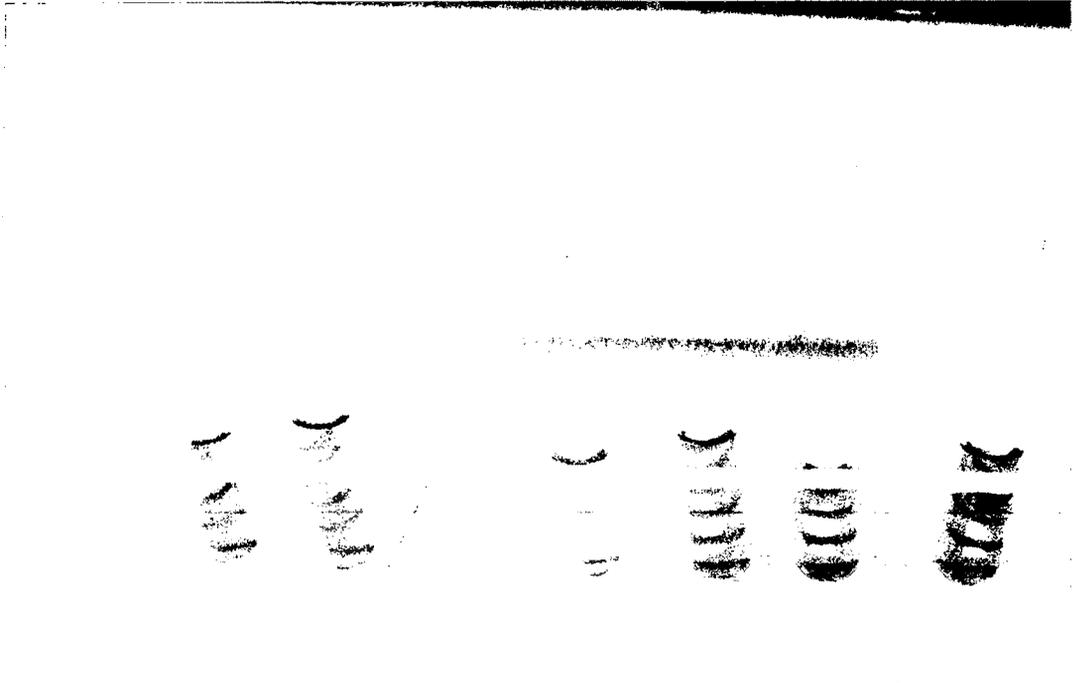
**Fotografía N° 3. Sacrificio de la cría de alpaca para la obtención de muestra del contenido gastrointestinal. Ayacucho, 2010.**

### ANEXO N°13



**Fotografía N° 4. Realizando la Siembra en agar Streptococcus para el aislamiento y selección cepas nativas. Laboratorio de Microbiología, UNSCH. Huamanga .Ayacucho, 2010.**

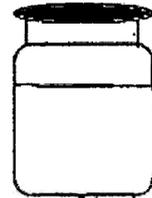
## ANEXON°14



Fotografía N° 5. Resultado de la Prueba bioquímica para identificación de *Streptococcus spp.* del contenido gastrointestinal de crías de alpaca. Laboratorio de Microbiología, UNSCH. Huamanga .Ayacucho, 2010.

## ANEXO N°15

### Flujograma N°01 Aislamiento e identificación de *Streptococcus* spp



Muestra:  
Contenido  
estomacal del  
intestino delgado

1ml

#### Pre enriquecimiento en caldo



Caldo lactosado 100 ml.

Incubar 37°C X 48 horas

#### Siembra por la técnica de estrias en medio agar *Streptococcus*



Incubar 37°C X 48 horas en condición anaeróbica



Colonias en placas.

#### Viales con cepas seleccionadas



ANEXO Nº 16

Flujograma Nº 02. Identificación de Streptococcus spp.

Viales con cepas debidamente rotulados

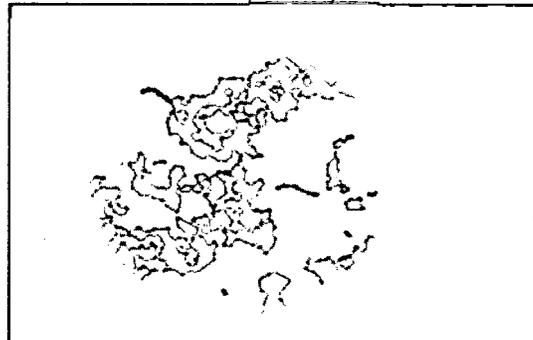
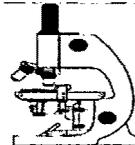


prueba de la catalasa



Catalasa negativo

Coloración gram



Observación microscopio de bacterias Gram positivas con 100X de aumento

**ANEXO Nº 17**

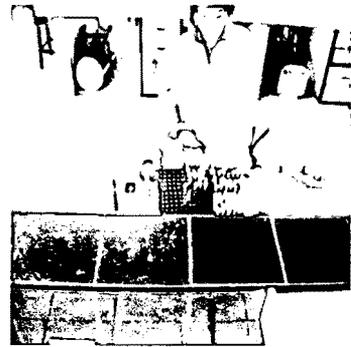
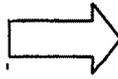
**Flujograma Nº3. Prueba de hemolisis**



Muestra de sangre de ovino y agar nutritivo



Placas con agar sangre



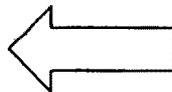
siembra de las cepas nativas



incubar 37°C x 48 horas



Resultado: Hemolisis completa



## ANEXO Nº 18

Flujograma Nº 04. Pruebas de Identificación Bioquímica



Viales con cepas puras de Streptococcus spp

Sembrar en medios bioquímicos



Incubar los medios bioquímicos a 37°CX 48 h

Resultados

Pruebas bioquímicas

- Inulina
- Lactosa
- Manitol
- Rafinosa
- Ribosa
- Salicina
- Sorbitol





## ANEXO Nº 19

Título	Problema	Objetivo	Marco Teórico	Muestreo
<p>Identificación de cepas nativas de Streptococcus spp. del contenido gastrointestinal de las crías de Lama pacos "alpaca", INIA, Ayacucho, 2009.</p>	<p>Enunciado del problema ¿Es posible la identificación de cepas nativas de Streptococcus spp. del contenido gastrointestinal de las crías de alpaca?</p>	<p>Objetivo General Identificación de cepas nativas de Streptococcus spp. del contenido gastrointestinal de las crías de alpaca.</p>	<p>Los Streptococcus comprende un grupo heterogéneo de bacterias responsables de diferentes cuadros clínicos tanto en el hombre como en los animales, a partir de varios factores tales como: las características propias del tipo de Streptococcus responsable, la puerta de entrada y las particularidades intrínsecas del huésped.</p> <p><b>Importancia de los Camélidos sudamericanos:</b> La crianza de Alpacas y llamas constituye una actividad económica de gran importancia para un vasto sector de la población alto andina del Perú y Bolivia y, en menor grado en Argentina, Chile y Ecuador .Se estima que alrededor de 5000mil familias campesinas de la región andina dependen, directamente, de la actividad económica de la crianza de camélidos sudamericanos; otras tantas familias, también depende indirectamente de esta actividad. En la actualidad se considera a la alpaca como un recurso muy valioso y tal vez la especie más rentable por domesticación y por su avanzado desarrollo y posibilidad de mejoramiento.</p>	<p><b>POBLACIÓN:</b> 100 crías de alpaca de las comunidades alpaqueras, 50 crías de alpaca provenientes de los rebaños Ccarhuapampa y 50 crías de los rebaños San Fé.</p> <p><b>MUESTRA:</b> 10 crías de alpaca, 5 crías de los rebaños Ccarhuapampa y 5 crías de los rebaños San Fé.</p> <p><b>UNIDAD DE ANÁLISIS:</b> 1 ml. del contenido gástrico del intestino delgado (duodeno e íleon).</p> <p><b>TIPO DE MUESTREO</b> Aleatoria simple.</p> <p><b>Toma de muestra</b> El experimento se realizó en el ámbito de acción de la Estación Experimental del INIA ubicada en la zona agro ecológica Sierra Tropical Media Alta, en la Zona de Vida: bs - MBS (bosques secos - Montano Bajo Sub Tropical) del Perú; donde están ubicadas las provincias de Huamanga y Cangallo que se encuentran en el norte del departamento de Ayacucho siendo las comunidades alpaqueras de Ccarhuapampa y Santa Fé; ubicados a una altitud media de 4000 m.s.n.m. Se seleccionó 100 crías de alpaca de las localidades de Ccarhuapampa y Santa Fé, luego se seleccionó al azar 10 crías de alpaca, 5 crías provenientes de la comunidad de Ccarhuapampa y 5 de crías de la comunidad San Fé, obteniéndose la muestra mediante el raspado de la mucosa del contenido gastrointestinal.</p>

Identificación de cepas nativas de *Streptococcus* spp. del contenido gastrointestinal de las crías de *Lama pacos* "alpaca", INIA. Ayacucho, 2009.

Autor : Bach. Felicitas, Palomino Jayo.  
Asesora : Mg. Vidalina Andia Ayme.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación es básico descriptivo, consistió en la identificación de *Streptococcus* spp del contenido gastrointestinal de crías de "alpaca", con el fin de contribuir al estudio de aislar especies de *Streptococcus* que habitan en el contenido gastrointestinal.

Para la toma de muestras se empleó un muestreo aleatorio simple obteniéndose 10 muestras de crías de alpaca provenientes de dos comunidades alpaqueras (Ccarhuapampa y Sante Fé), sacrificando el animal, se obtuvo 1ml de muestra del contenido gastrointestinal. Se hizo el preenriquecimiento en caldo lactosado incubándose a 37°C por 24 horas. Luego se sembró por la técnica de siembra por estrías en agar *Streptococcus* se incubó a 37° C por 48 horas. Se seleccionó las colonias pequeñas con bordes netos como gota de rocío, para realizar el repique en ceparios. Luego se hizo la identificación presuntiva (coloración Gram y catalasa). Se obtuvieron 21 cepas puras a partir de las 10 muestras de crías, luego se realizó la prueba de hemólisis en agar sangre, la prueba de crecimiento a temperatura 45°C y pH 9.6, para finalmente realizar la identificación confirmativa, con las prueba de fermentación de azúcar como: inulina, lactosa, manitol, rafinosa, ribosa, salicina y sorbitol. Se llegó a identificar cinco especies del género *Streptococcus* siendo en mayor porcentaje la especie de *Streptococcus parvulus* con 28.6%, seguido *Streptococcus intestinalis* y *Streptococcus thermophilus* con 23.8%, *Streptococcus acidominimus* 19% y con 4.8% *Streptococcus salivarius*.

Palabras clave: *Streptococcus* spp, *Lama pacos*. "alpaca"

ABSTRACT

This research work is basic descriptive, consisted of the identification of *Streptococcus* spp of content gastrointestinal offspring of "alpaca", in order to contribute to the study of isolate species of *Streptococcus* that inhabit the content gastrointestinal.

For the samples are employed a random sampling obtaining 10 samples of young alpaca from two communities alpaqueras (Ccarhuapampa and Sante Fe), sacrificing the animal, got 1ml of sample of gastrointestinal content. It was the pre Enrichment in broth lactose incubating at 37°C for 24 hours. Then was planted by the technique of sowing by streak in agar *Streptococcus* are incubated at 37th C for 48 hours.

Was selected the colonies small with edges as net drop of dew, to make the ringing in ceparios. Then became the presumptive identification (coloring Gram and catalase). Were obtained 21 strains pure from the 10 samples of offspring, then conducted the test of haemolysis agar blood, proof of growth to temperature 45°C and pH 9.6, to finally make the identification confirmatory, with the evidence of fermentation of sugar as: inulin, lactose, mannitol, raffinose, Ribose, salicina and sorbitol. It was identify five species of the genus *Streptococcus* remain in higher percentage the species of *Streptococcus parvulus* with 28.6%, followed *Streptococcus intestinalis* and *Streptococcus thermophilus* with 23.8%, *Streptococcus acidominimus* 19% and 4.8% *Streptococcus salivarius*.

Key Words: native Strains, *Streptococcus* spp, *Lama pacos*. "alpaca".

I. INTRODUCCIÓN

Nuestro país es el primer productor de camélidos sudamericanos a nivel mundial, con una población aproximada de 4 millones de animales, entre alpacas, vicuñas y llamas. La mayoría están en los departamentos del sur como Puno, Cusco, Arequipa, Ayacucho y Huancavelica; constituyéndose así la especie ganadera más importante desde el punto de vista económico en las zonas alto andinas (Solís, 1997).

Los *Streptococcus* comprende un grupo heterogéneo de bacterias responsables de diferentes cuadros clínicos tanto en el hombre como en los animales, a partir de varios factores tales como: las características propias del tipo de *Streptococcus* responsable, la puerta de entrada y las particularidades intrínsecas del huésped (Jawetz, 2006)

Son exigentes, requieren medios con sangre y/o suero. Son adecuados el agar sangre que permite diferenciar *Streptococcus Beta hemolítico* y ahemolítico, en el agar sangre con azida de sodio. Las colonias con 24 horas de incubación a 37 °C en aerobiosis o anaerobiosis son de 1 a 2 mm de diámetro, en forma de gotas de rocío. Es característica del género la prueba de Catalasa negativa. Pruebas de asimilación de carbohidratos, son útiles para la identificación de especies. No producen pigmento con

excepción de algunas especies de los grupos B y D (Martínez, 1995).

Los *Streptococcus* están distribuidos de una forma muy amplia en la naturaleza, unos forman parte de la flora normal y otros se relacionan con enfermedades en cuadros clínicos muy disímiles atribuibles en parte a la susceptibilidad hacia ellos. Se ha observado que estas entidades, aunque afectan con mayor frecuencia a humanos, cerdos y bovinos, puede infectar a otras especies como carneros, perros y gatos (Martínez, 1995).

*Streptococcus thermophilus* es una bacteria láctica termófila utilizada como fermento lácteo en la industria lechera. Estas bacterias transforman la lactosa en ácido láctico, y presenta por eso una actividad acidificante. Esta acidificación, inhibe el crecimiento de numerosas bacterias indeseables, algunas de las cuales son bacterias patógenas, y permite también, más o menos rápidamente, su eliminación. La actividad acidificante de estas bacterias está duplicada sin embargo por la actividad de hidrólisis de la urea, actividad que afecta la cinética de acidificación (Martínez, 1995).

El objetivo general del trabajo de investigación consistió en: identificar cepas nativas de *Streptococcus* spp del contenido gastrointestinal del las crías de *Lama pacos* "alpaca" INIA Ayacucho,

2009; siendo como objetivo específico:  
Identificación y aislamiento del género *Streptococcus*

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. UBICACIÓN.

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de microbiología del Departamento Académico de Ciencias Biológicas de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, distrito de Ayacucho, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho a 2760 m.s.n.m.

##### 3.1.1. Población:

100 crías de alpaca de las comunidades alpaqueras, 50 crías de alpaca provenientes de los rebaños Ccarhuapampa y 50 crías de los rebaños San Fé.

##### 3.1.2. Muestra:

10 crías de alpaca, 5 crías de los rebaños Ccarhuapampa y 5 crías de los rebaños San Fé.

##### 3.1.3. Unidad de análisis:

1 ml. del contenido gástrico del intestino delgado (duodeno e íleon).

#### 3.2. TIPO DE MUESTREO

Aleatoria simple.

#### 3.3. TOMA DE MUESTRA

El experimento se realizó en el ámbito de acción de la Estación Experimental del INIA ubicada en la zona agro ecológica Sierra Tropical Media Alta, en la Zona de Vida: bs – MBS (bosques secos – Montano Bajo Sub Tropical) del Perú; donde están ubicadas las provincias de Huamanga y Cangallo que se encuentran en el norte del departamento de Ayacucho siendo las comunidades alpaqueras de Ccarhuapampa y Santa Fé; ubicados a una altitud media de 4000 m.s.n.m. Se seleccionó 100 crías de alpaca de las localidades de Ccarhuapampa y Santa Fé, luego se seleccionó al azar 10 crías de alpaca, 5 crías provenientes de la comunidad de Ccarhuapampa y 5 de crías de la comunidad San Fé, obteniéndose la muestra mediante el raspado de la mucosa del contenido gastrointestinal los cuales fueron trasladados al laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas. Colocándose en bolsa de polietileno nuevo, el rotulado se hizo teniendo en cuenta el lugar, número de muestra y fecha, para su conservación se colocó en un envase de tecnopor.

#### 3.4. DISEÑO METODOLÓGICO

##### 3.4.1. Identificación de *Streptococcus* sp.

A partir de la muestra obtenida mediante el raspado de la mucosa intestinal específicamente del intestino delgado (duodeno e íleon), se sembró 1 mL de muestra en caldo lactosado, que es un medio rico en nutrientes, esto permitirá crecimiento y adaptación de las bacterias al nuevo medio de cultivo, se incubó a 37°C por 24 horas. Luego se observó el crecimiento microbiano por la turbidez del caldo lactosado. A partir del caldo lactosado se sembró por la técnica de siembra por estrías en un medio selectivo agar *Streptococcus*, medio que solo permite el crecimiento de grampositivas, su selectividad está basada en la acción de azida de sodio y el sulfito que inhibe el crecimiento de gramnegativas y el cristal de violeta hace lo propio con las grampositivas, incubándose a 37° C por 48 horas. Se seleccionó las colonias muy pequeñas con bordes netos como gotas de rocío, se realizó el repique en cerapios.

Identificación presuntiva, se hizo la prueba de coloración Gram para diferenciar cocos grampositivos y la prueba catalasa para diferenciar de las bacterias grampositivas catalasa positiva. Luego se sembró las colonias presuntivas en agar sangre para observar el efecto que tiene la cepa sobre el medio, esto nos permitió observar el tipo de hemólisis que puede causar, la que puede ser hemólisis completa

*spp* del contenido gastrointestinal de crías de *Lama pacos* "alpaca".

(transparencia), hemólisis parcial (coloración verdosa), y gama hemólisis (sin cambio).

Identificación confirmativa, luego de determinar que se trata de un coco grampositivo y catalasa negativo, se práctico a las cepas presuntas de *Streptococcus*, la prueba de fermentación de carbohidratos, para lo cual se empleo medio base para fermentación de azúcar, un indicador de pff azul de bromotimol, luego se adicionó al medio base los azúcares en estudio en una concentración final de 0.5% como: inulina, manitol, rafinosa, ribosa, salicina, y sorbitol, se repartió en tubos a razón de 3 ml por tubo, esterilizó en autoclave 121°C por 15 minutos. En caso de la lactosa que es una sustancia que no soporta la temperatura de 121°C, esterilizó el medio base en autoclave y luego se adicionó al azúcar al 10% previa esterilización por filtración, se tomo una colonia a examinar y se adicionó en el tubo con azúcar incubándose a 37°C por 72 horas en condición anaerobiosis. También se aplicó la prueba de crecimiento a una temperatura 45°C en caldo factosado y caldo pH 9.6 capacidad que presenta para desarrollar, se incubó a 37°C por 72 horas se interpreta los resultados por la turbidez del medio.

Los resultado se obtienen en base al viraje o cambio del color inicial del indicador azul de bromotimol a color amarillo esto indicará la capacidad de fermentación de azúcar por estas bacterias lo cual se denotó como positivo, sino presenta cambio será negativo, para la fermentación, en el proceso de fermentación hay producción de acido que bajan el pH del medio existiendo una variación de color dada por el indicador azul de bromotimol. Los resultados se comparó con la tabla de identificación bioquímica *Manual de Bergey's* (1994)

#### 3.5. PROCESAMIENTO PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS

En seguida de la identificación y aislamiento de cepas nativas de *Streptococcus spp.* se anotó las características típicas de las colonias formadas y el número de estas colonias.

A continuación de la identificación se anotó la cantidad de especies de *Streptococcus spp* halladas, los cuales fueron registrados en una ficha de recolección de datos.

#### 3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos fueron tabulados y representados en cuadros estadísticos de frecuencia porcentual.

### VI. RESULTADOS

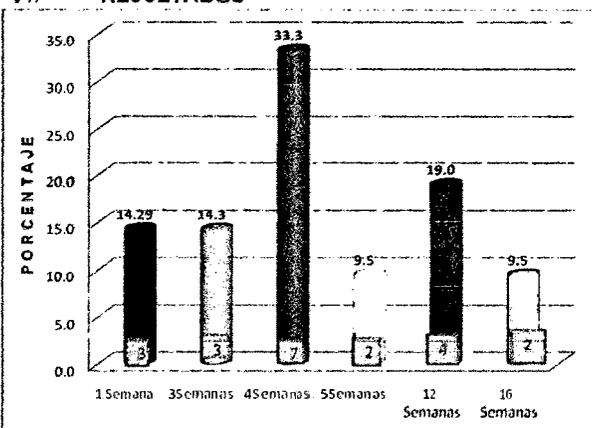


Gráfico Nº 01: Porcentaje promedio de número de cepas aisladas del contenido gastrointestinal de las crías de alpaca a partir de las 10 muestras según edad, para la identificación de *Streptococcus spp.* INIA - Ayacucho, 2009

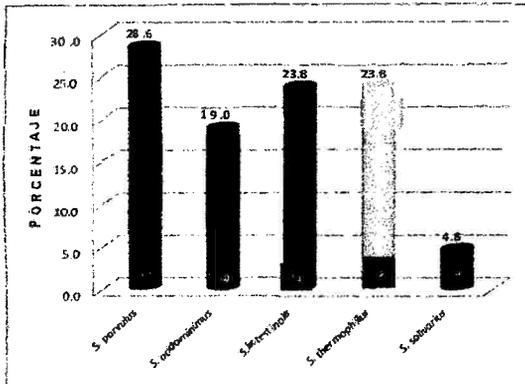


Gráfico Nº 02: Porcentaje promedio de especies de *Streptococcus spp.* Identificadas a partir de 21 cepas aisladas del contenido gastrointestinal de crías de *Lamas pacos*, "alpaca" INIA - Ayacucho, 2009.

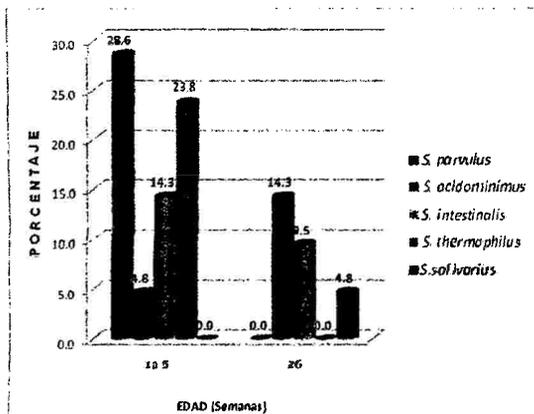


Gráfico Nº 03: Porcentaje promedio de especies de *Streptococcus* aisladas del contenido gastrointestinal de crías de *Lamas pacos*, "alpaca" según edad INIA - Ayacucho, 2009.

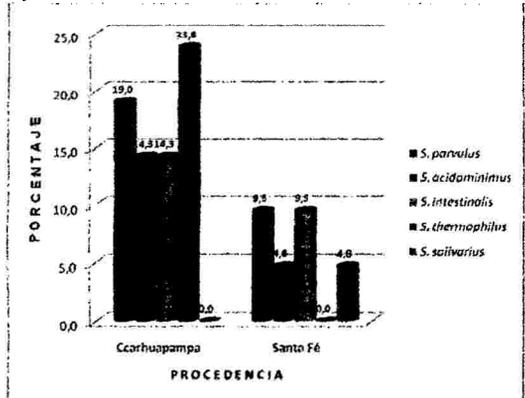


Gráfico Nº 04: Porcentaje promedio de especies de *Streptococcus* aisladas del contenido gastrointestinal de crías de *Lamas pacos* "alpaca", según procedencia. INIA - Ayacucho, 2009.

#### V. DISCUSIÓN

En el gráfico Nº 01 se observa número de cepas puras aisladas a partir de las 10 muestras de crías de

alpaca, para la identificación de *Streptococcus spp* en el contenido gastrointestinal. INIA - Ayacucho, 2009., hallándose mayor número de cepas puras de *Streptococcus spp.* En muestras de 4 semanas de edad, con un porcentaje de 33.3%, 12 semanas de edad con un 19%, 1 y 3 semana de edad 14.3%. Finalmente de 5 y 16 semanas de edad 9.5% respectivamente. Respecto al desarrollo pos natal de los preestómagos y el estómago San Martín, (1991), señala que cerca de las 8 semanas de edad la porción tisular de los compartimentos es similar a las alpacas adultas. Por otra parte, el mismo autor indica que la actividad microbiana de estos animales es significativa en 12 semanas de edad, lo cual se relaciona con una disminución de los niveles de glucosa en la sangre y un incremento de la producción de ácidos grasos volátiles y una disminución de pH del rumen retículo. Por otro lado, el primer contacto con dietas forrajeras también marcará la futura carga microbiana del sistema digestivo de las alpacas, presentándose al final de su adaptación  $10^{10}$  y  $10^{11}$  bacterias/ml de contenido ruminal, no especificándose la cantidad de protozoos y hongos (Aquino, 2004).

En el gráfico Nº 02, observamos la frecuencia especies de *Streptococcus* identificadas a partir de 21 cepas puras aisladas del contenido gastrointestinal según procedencia. INIA - Ayacucho, 2009.

En el gráfico Nº 02, observamos la frecuencia especies de *Streptococcus* identificadas a partir de 21 cepas puras aisladas del contenido gastrointestinal de crías de "alpaca", donde el 28.6% son *Streptococcus parvulus*, 23.9% *Streptococcus intestinalis* y *Streptococcus thermophilus*, 19% *Streptococcus acidominimus* y con 4.8% *Streptococcus salivarius* respectivamente.

Según Fox, (1988), menciona que los microorganismos que predominan en el contenido intestinal son bacterias anaerobias facultativas, como eubacterias, peptococos, lactobacilos, y bifidobacterias. En segundo lugar en abundancia se encuentra *Streptococcus*. La microbiota incluye organismos sacarofíticos y proteolíticos. Si se consideran solamente las regiones anatómicas el duodeno es la zona de menor contenido, no más de  $10^4$  UFC/g de contenido ruminal, seguido del yeyuno, el ileon son las zonas con mayor contenido, superior a  $10^{11}$  UFC/g de contenido ruminal.

Según Aquino, (2004), refiere que la flora microbiana frecuente en el sistema digestivo de la alpaca generalmente está constituido por *Streptococcus spp.* (15.2%), *Lactobacillus vitulinus* (12.1%), *Prevotella ruminicola* (8.2%), *Lactobacillus ruminus* (6.5%).

Rodríguez (2000), cita que los camélidos sudamericanos difieren en la composición de microorganismos presentes en su sistema digestivo, presentándose en frecuencia variables *Streptococcus thermophilus* (12.1%), *Streptococcus intestinalis* (11.1%), *Streptococcus salivarius* (6.4%), resultados que difieren a los hallados en esta investigación.

En el gráfico Nº 03, se muestra la frecuencia de especies de *Streptococcus* aislados del contenido gastrointestinal de crías de "alpaca" según la edad, hallándose una menor frecuencia de *Streptococcus salivarius* con solo 1 caso (4.8%), mientras que el resto de especies presentan entre 6 a 5 casos, con porcentajes que van desde 28.6% a 23.8 %. Asimismo, *Streptococcus parvulus* se hallan en mayor frecuencia en crías de alpacas de 1 a 5 semanas en comparación con las de mayor edad. También resalta el hecho de que en forma general los porcentajes de presencia de las especies de *Streptococcus* disminuyen, incluso llegan a desaparecer en 12 y 16 semanas de edad como *Streptococcus parvulus*,

*Streptococcus thermophilus*, en el caso de *Streptococcus salivarius* recién aparece en crías de alpaca de 5 semanas edad

La variación de microorganismos del sistema digestivo está en relación a la edad, lugar y tipo de crianza de la "alpaca", presentándose una variada diferencia entre animales de dos semanas de nacido a mayores o iguales a las tres semanas de nacido ( $P < 0.05$ ), presentándose una población general de bacterias  $10^7$  a  $10^4$  bacterias/ml en las dos primeras semanas de nacido a  $10^8$  a  $10^{10}$  al final de las tres semanas de nacido (De la Cruz, 2008).

Por otro lado, Aquino (2004), refiere que las bacterias presentes en el sistema digestivo desde los primeros días de vida de la alpaca, varían desde la 1-3 semanas de edad, siendo diferentes a los animales adultos; aproximadamente en la semana 8 ya son más parecidas y entre las semanas 9 a 17 las bacterias predominantes son las típicas de los animales adultos, manifestándose mayor riesgo de morir en las primeras semanas de vida por bacterias patógenas.

Según (De la Cruz, 2008) y (Aquino, 2004), el primer día de vida colonizan el sistema digestivo de las alpacas bacterias aeróbicas o anaeróbicas facultativas como varias especies de estreptococos y lactobacilos, por ello la variedad hallada en esta investigación es *Streptococcus*. Después se produce la colonización secuencial por grupos funcionales: las primeras son las bacterias amilolíticas, alcanzando un número constante a los 3 días de edad; después colonizan las bacterias incluidas dentro de los grupos reductoras de sulfato, utilizadoras de lactato (producido por las amilolíticas), fermentadoras de xilito y fermentadoras de pectina; las celulolíticas necesitan nutrientes producidos por los grupos bacterianos anteriores, por lo que colonizan el rumen a los 3-5 días de edad. En último lugar se produce la colonización de las metanogénicas que tienen una relación simbiótica con las bacterias celulolíticas.

Sánchez, (2005). Aunque las poblaciones microbianas estén presentes en el sistema digestivo desde los primeros días de vida, será la presencia de alimento fermentable y el lugar de crianza lo que active la actividad microbiológica y pocos días consumiendo alimento sólido son suficientes para aumentar significativamente la capacidad fermentativa del rumen. Por ello la variación de microorganismos aislados en las crías de "alpaca".

En el gráfico N° 04, referido a la frecuencia de especies de *Streptococcus* aisladas del contenido gastrointestinal de crías de *Lama pacos* "alpaca", según procedencia. Se muestra que el mayor porcentaje de *Streptococcus* aislados fueron en crías de "alpaca", provenientes de los rebaños de la comunidad de Ccahuapampa con excepción de *Streptococcus salivarius* que solo aparece en los rebaños de la comunidad Santa Fe. En crías de alpacas provenientes de la comunidad Ccahuapampa con mayor frecuencia es *Streptococcus thermophilus* (23.8%), seguida de *Streptococcus parvulus* (19%), *Streptococcus acidominimus* y *Streptococcus intestinalis* con 14.3%, mientras de comunidad Santa Fe es *Streptococcus parvulus* y *Streptococcus intestinalis* con un 9.5%. Finalmente *Streptococcus salivarius* con 4.8%.

#### VI. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente investigación se arribó a las siguientes conclusiones:

1° Se identificó cinco especies del género *Streptococcus* siendo el mayor porcentaje la especie de *Streptococcus parvulus* con 28.6%, seguido de las especies de *Streptococcus intestinalis* y

*Streptococcus thermophilus* con 23.8%, *Streptococcus acidominimus* 19% y *Streptococcus salivarius* con 4.8% respectivamente

2° La mayor cantidad de especies de *Streptococcus* aisladas fueron en "alpacas" con edades de 1 a 5 semanas de edad, siendo el 28.6% de *Streptococcus parvulus* y 23.8% de *Streptococcus thermophilus*, con menor frecuencia de *Streptococcus salivarius* con solo 1 caso (4.8%), mientras que el resto de especies presentan entre 6 a 5 casos, con porcentajes que van desde 28.6% a 23.8%. Así mismo, *Streptococcus parvulus* se hallan en mayor frecuencia en crías de alpacas de 1 a 5 semanas en comparación con las de mayor edad. También resalta el hecho de que en forma general los porcentajes de presencia de las especies de *Streptococcus* disminuyen, 12 y 16 semanas de edad como *Streptococcus parvulus*, *Streptococcus thermophilus*

#### VII. RECOMENDACIONES

- 1° Realizar investigaciones referidas al tema con la finalidad de identificar y aislar bacterias benéficas del sistema digestivo de la "alpaca", debido a que existe un elevado porcentaje de mortandad en las primeras semanas de vida de estos animales.
- 2° Realizar investigaciones referidas a la producción de bacterias con actividad probiótica aisladas del sistema digestivo de crías de "alpacas" que superaron las 10 primeras semanas de vida, ya que ellos están adaptados para resistir a la carga microbiana presente en los alimentos.
- 3° Realizar el estudio de la microflora del contenido gastrointestinal de crías de alpaca, tomando en cuenta las zonas anatómicas del intestino

#### VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Anzo, H. 2002. Guía de práctica de Bioseguridad, desinfección, esterilización. UNSCH. Ayacucho. Perú.
2. Aquino, N. 2004. Características generales del sistema digestivo del *Lama pacos* "alpaca". Monografía. Universidad Autónoma Gabriel René Moreno. Facultad de Veterinaria y Zootecnia. Bolivia.
3. Brooks, G., Butel, J., Morse, S. 2002. Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg, 17ª Edición. Editorial el Manual Moderno S.A. México.
4. Bustanza, V. 2001. La Alpaca, Crianza, Manejo y Mejoramiento. Primera Edición. Oficina de Recursos del Aprendizaje, Sección Publicaciones. UNA-Puno.
5. Chesson, A. y Forsberg, C. 1997. Polysaccharide degradation by rumen microorganisms. In: Hobson, P. And Stewart, C. The Microbial Ecosystem, segunda edición. Editorial. Chapman. Hall Ltd, Andover, UK, pp 329-381 (22/05/09).
6. Camacho, C. 1999. Revista científica Enfermedades entéricas en los cerdos, Mundo avícola y porcino. Pp 39-42. (01/02/10)
7. Carrascal, A. Páez A y Burbano, M. 2003. Manual de laboratorio microbiología de alimentos, 8ª Edición. Editorial Javeriano. Bogotá, Colombia.
8. Caja, E. González, C. Flores, M. Carro 2003. Grupo de Investigación en Rumiantes, Universidad Autónoma de Barcelona Departamento de Producción Animal, Universidad de León.

9. **Cerda, A. 2004.** Fermentación ruminal, degradación proteica y sincronización energía-proteína. Universidad Autónoma de Barcelona. Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos. Facultad de Veterinaria.
10. **Concejo Nacional de Camélidos Sudamericanos (CONACS) –MINAG;** Folleto de crianza de Alpaca. Lima Perú, 2001.
11. **De la cruz, M. 2008.** Sistema digestivo del *Lama pacos* "alpaca". Monografía. Universidad Autónoma Gabriel Rene Moreno. Facultad de Veterinaria y Zootecnia. Bolivia.
12. **Fernández, S. 1991.** Avances y Perspectivas del Conocimiento de los "Camelidos Sudamericanos" Oficina Regional de Producción Animal Santiago de Chile. Chile.
13. **Freeman, B.1989.** Microbiología de Burrows, 22<sup>a</sup> Edición. Editorial medica panamericana Buenos Aires, Argentina.
14. **Forsberg, C. Cheng, K. y Phillips, J. 1993.** Establishment of rumen microbial gene pools and their manipulation to benefit fibre digestion by domestic animals. Proceedings VII World Conferense on Animal Production, pp.281-316. World Association for Animal Poduction, Edmonton.

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

R.D. Nº 193 – 2010- FCB – D

Bach. FELICITAS PALOMINO JAYO.

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro de la tarde del viernes doce de noviembre del dos mil diez, reunidos en el Auditorium de la Facultad de Ciencias Biológicas, reunidos el jurado de sustentación de tesis precedida por el Decano M.S. Elmer Alcides Ávalos, Blga. Vidalia Andia Ayme (Asesora) y Blga. Rosa Eloya Cortez Saavedra (Miembro), Mg. César Rodolfo Vargas (Miembro), actuando como secretario de docente la Mg. Maricela López Sierralta quienes administran la tesis titulada "Caracterización de cepas nativas de *Streptococcus spp.* del contenido gastrointestinal de las crías de "alpaca" *Lama pacos*. INIA, Ayacucho 2009. Presentado por la Bachiller Felicitas Palomino Jayo, quien con la exposición del presente trabajo de investigación pretende optar el título profesional de Bióloga.

Luego de la verificación de la documentación en mesa el decano solicita a la secretaria docente dé lectura a la Resolución de canal R.D Nº 193- 2010-FCB-D, documento que queda el sustento legal del acta de sustentación. La sustentante es instituida respecto al tiempo de la exposición e inicio de la exposición.

Culminada la sustentación el decano invita a los jurados a realizar la observación y las preguntas que crean convenientes.

La profesora Rosa Cortez pregunta: ¿Son suficientes las pruebas presuntivas y bioquímicas para caracterizar las especies en la prueba? ¿Por qué existen reportes a los encontrados en tu trabajo de investigación? ¿Lo microorganismos aislados? ¿Tendrán capacidad probiótica?

El profesor Cesar Rodolfo Vargas participa en calidad de cuarto jurado quien realiza sus observaciones que quedan indicados en el texto, además manifiesta que la Caracterización no lo realizó solo el aislamiento y la identificación, por lo tanto sugiere modificar el título.

¿Qué factores influyen para la frecuencia de las especies? ¿Cuál que la finalidad de su trabajo de investigación?

¿Los camélidos son homotermos o poiquilotermos?

El profesor Elmer Avalos Manifiesta no se ciñe al trabajo de investigación porque tiene referencia Caracterización de investigación ¿Cuál su la muestra y población? ¿Cuál es el análisis estadístico que aplicó?

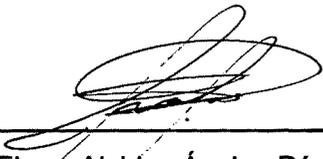
La profesora vidalina Andia Ayme inicia su participación como Asesora del trabajo de investigación, realizando las aclaraciones o las observaciones realizadas.

Luego de la ronda de preguntas el decano insta a la sustentante y al público en general abandonar la sala para que el jurado calificador fue deliberar y realizar la calificación como sigue:

<b>Miembro Jurado</b>	<b>Exp.</b>	<b>Resp. Preg.</b>	<b>Promedio</b>
M.S. Elmer Alcides Avalos Pérez.	16	14	15
Blga. Rosa Eloysa Cortez Saavedra.	15	15	15
Blga. Vidalia Andía Ayme.	17	16	17
Mg. César Rodolfo Vargas.	15	13	14
<b>Promedio final:</b>			<b>15</b>

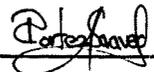
Como resultado de la calificación la sustentante obtuvo el promedio de Quince (15) delo cual dan fe los miembros del jurado calificador estampando su firma al pie del presente.

Se da por concluido la sustentación de tesis siendo las siete de la noche.



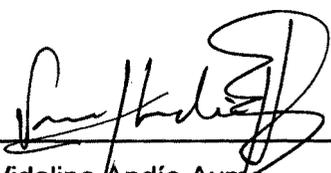
---

M.S. Elmer Alcides Avalos Pérez.  
Presidente



---

Blga. Rosa E. Cortez Saavedra.  
Miembro



---

Blga. Vidalia Andía Ayme.  
Asesora



---

Mg. César Rodolfo Vargas.  
Miembro



---

Mg. Maricela López Sierralta.  
Secretaria - docente