

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE
BIOLOGÍA EN ACUICULTURA**



**“CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE LA MICROBIOTA BACTERIANA
DE JUVENILES DE *PARALICHTHYS ADSPERSUS* “LENGUADO”
CULTIVADOS EN ESTANQUE (HUARMEY, PERÚ)”**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE BIÓLOGO ACUICULTOR

AUTORES:

Bach. Alvarez Calderón, Julia Mercedes

Bach. Trujillo De la Cruz, Roz Sebett

ASESOR:

Dr. Carlos A. Azañero Díaz

**NUEVO CHIMBOTE – 2021
PERÚ**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE
BIOLOGÍA EN ACUICULTURA**



**“CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE LA MICROBIOTA BACTERIANA
DE JUVENILES DE *PARALICHTHYS ADSPERSUS* “LENGUADO”
CULTIVADOS EN ESTANQUE (HUARMEY, PERÚ)”**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE BIÓLOGO ACUICULTOR

AUTORES:

Bach. Alvarez Calderón, Julia Mercedes

Bach. Trujillo De la Cruz, Roz Sebett

A handwritten signature in black ink, which appears to read "Carlos A. Azañero Díaz". The signature is written in a cursive style and is positioned above a horizontal line.

Dr. Carlos A. Azañero Díaz

ASESOR

NUEVO CHIMBOTE – 2021

PERÚ

JURADO DICTAMINADOR



Blgo. Acui. Carmen Yzasiga Barrera
Presidente



Ms.C. Sorayda Mendoza Espinoza
Secretario



Dr. Carlos Azañero Díaz
Integrante

DEDICATORIA

A Dios por acompañarme en cada momento de mi vida y mostrarme que nada es imposible.

A mi hijo Fernando, a quien le quite un poquito de su valioso tiempo para dedicarlo a la ejecución de esta tesis, quien representa la fuerza ante las adversidades.

A mis padres Fernando y Aurora, por su sacrificio, esfuerzo e incondicional amor.

A Raul, por ser mi apoyo moral en los tiempos difíciles,

A mis hermanas Angélica, Luz y Giovanna por impulsarme a seguir siempre adelante.

A los que me quieren y acompañaron en este fascinante camino.

“Que Dios me los bendiga a todos”

Los amo

Mercedes

A Dios por ser mi guía en todo lo que hago y mi guardián que jamás me desampara, quien provee de salud y amor a nuestra familia.

A mis padres Seleuco y Rosa, quienes me inculcaron la perseverancia, por ser la razón de seguir adelante y porque los amo demasiado.

A mis hermanitas, Bony & Eredith porque son mi orgullo y sé que el amor es mutuo.

Roz

AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestros más sinceros agradecimientos a todas aquellas personas que de buena fe, tuvieron un buen consejo para nosotros y ayudaron durante la realización de esta Tesis, en especial:

- Al Dr. Carlos Azañero asesor de esta Tesis, gracias por su dedicación y asesoramiento en la revisión de nuestros manuscritos, por brindarnos su apoyo.
- Expresamos nuestra gratitud a la Blga. Rita Orozco co-asesora de esta Tesis, gracias por las facilidades dadas para trabajar en el Laboratorio de Microbiología del Instituto del Mar del Perú (IMARPE).
- A la Blga. Violeta Flores Dominick por ayudarnos y estar dispuesto siempre a resolver nuestras dudas y en todo lo necesario, Usted es un verdadero ejemplo de entrega y dedicación a la investigación.
- Al Tec. Oscar Chauca Quintanilla por despejar nuestras dudas y hacer de la microbiología sencilla e interesante.
- A los amigos que conocimos en el Instituto del Mar del Perú (IMARPE), que hicieron que nuestra estadía fuera muy agradable y a quienes tendremos presente por siempre.

CONTENIDO

| | |
|--|------|
| Dedicatoria..... | iv |
| Agradecimientos..... | vi |
| Índice de tablas | viii |
| Índice de figuras..... | viii |
| Índice de anexos..... | ix |
| Resumen..... | x |
| Abstract..... | xi |
| I. Introducción..... | 12 |
| II. Materiales y métodos..... | 16 |
| 2.1. Muestreo, transporte y aclimatación de ejemplares juveniles de <i>P. adspersus</i> | 16 |
| 2.2. Diagnóstico de campo y anatomopatología macroscópica | 16 |
| 2.3. Diagnostico e identificación bacteriológica..... | 17 |
| 2.3.1 Acondicionamiento y Disección de ejemplares..... | 17 |
| 2.3.2 Muestreo y procesamiento de órganos..... | 17 |
| 2.3.3 Siembra y aislamiento..... | 17 |
| 2.3.4 Identificación..... | 18 |
| 2.3.4.1 Por método convencional..... | 18 |
| 2.3.4.2 Prueba de vibriostatico 0/129..... | 19 |
| 2.3.4.3 Por sistemas miniaturizados API ®..... | 19 |
| 2.3.5 Conservación de los cultivos puros bacterianos..... | 23 |
| III. Resultados..... | 24 |
| IV. Discusión..... | 31 |
| V. Conclusiones..... | 38 |
| VI. Recomendaciones..... | 39 |

| | |
|--------------------------------------|----|
| VII. Referencias bibliográficas..... | 40 |
| VIII. Anexos... .. | 47 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| 1 Pruebas que consta la galería API 20 E | 22 |
| 2 Cultivos bacterianos seleccionadas e identificados con el Sistemas miniaturizados API®..... | 26 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| 1 Cartilla de API 20NE y Clave identificadas | 21 |
| 2 Porcentaje de cultivos bacterianos aisladas por órgano de juveniles de <i>Paralichthys adspersus</i> “lenguado” cultivados en estanque (Huarmey, Perú)..... | 24 |
| 3 Porcentaje de bacterias Gram (+) y Gram (-) encontradas en juveniles de <i>P. adspersus</i> “lenguado” cultivados en estanque (Huarmey, Perú)..... | 25 |
| 4 Cultivos bacterianos según géneros aislados de juveniles de <i>P. adspersus</i> “lenguado” cultivados en estanque (Huarmey, Perú) | 27 |
| 5 Cultivos bacterianos aislados de juveniles de <i>P. adspersus</i> “lenguado” cultivados en estanque (Huarmey, Perú) según género por muestreo | 28 |
| 6 Número de cultivo bacterianos por muestreo, de juveniles de <i>P. adspersus</i> “lenguado” cultivados en estanque (Huarmey, Perú)..... | 28 |
| 7 Porcentaje de las diferentes especies de <i>Vibrio</i> aislados de juveniles de <i>P. adspersus</i> “lenguado” cultivados en estanque (Huarmey, Perú)..... | 29 |
| 8 Porcentaje de crecimiento bacteriano en el medio GSP aislado de juveniles de <i>P. adspersus</i> “lenguado” cultivados en estanque (Huarmey, Perú) | 30 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | | |
|----|---|----|
| 1 | Condiciones del cultivo en estanque de juveniles de <i>P. adspersus</i> (Huarmey, Perú), durante los tres muestreos | 48 |
| 2 | Codificación utilizada para aislamiento bacteriano proveniente de cada juvenil de <i>P. adspersus</i> | 49 |
| 3 | Signos clínicos de los ejemplares juveniles de <i>P. adspersus</i> analizados | 50 |
| 4 | Peso (g) y Talla (cm) promedio de juveniles de <i>P. adspersus</i> “lenguado” durante los tres muestreos..... | 51 |
| 5 | Proceso de aclimatación de los ejemplares..... | 52 |
| 6 | Medición, pesaje y disección de los ejemplares de juveniles de <i>P. adspersus</i> | 52 |
| 7 | Tinción Gram de los cultivos bacterianos en TSA..... | 53 |
| 8 | Caracterización e identificación de los cultivos bacterianos aislados en el medio TCBS..... | 54 |
| 9 | Caracterización e identificación de cultivos bacterianos aislados en el medio GSP | 55 |
| 10 | Caracterización bioquímica de cultivos bacterianos aislados en medio TCBS..... | 56 |
| 11 | Caracterización bioquímica de cultivos bacterianos en medio GSP con viraje..... | 59 |
| 12 | Caracterización bioquímica de cultivos bacterianos aislados en medio GSP sin viraje..... | 62 |
| 12 | Caracterización bioquímica de cultivos bacterianos aislados en medio TSA y AS..... | 63 |
| 14 | Flujograma del procedimiento realizado para la cepa patrón <i>Aeromonas hydrophila</i> ATCC 49140 | 64 |

RESUMEN

El lenguado, *Paralichthys adspersus* es una especie promisoría para su cultivo, lo que ha incentivado el desarrollo e implementación de tecnologías para fines comerciales o de repoblamiento tanto en Chile como en Perú. El conocimiento de la microbiota de los peces en cultivo nos permite establecer nuevas estrategias para el manejo de enfermedades, nutrición entre otros. Actualmente no existen trabajos donde se haya caracterizado a las bacterias de juveniles de *P. adspersus* cultivados en estanque, por ello se realizó la caracterización de la microbiota bacteriana, aislando muestras de piel, riñón, bazo, hígado e intestino. Se emplearon 10 ejemplares por muestreo, realizándose 3 muestreos en diferentes periodos, para el aislamiento se utilizó medios de cultivo TSA, AS, Agar McConkey, GSP y TCBS, Se aislaron un total de 159 cultivos bacterianos de las cuales del total se identificaron 18 mediante el sistema miniaturizados: API 20E (5) y API20NE (13), teniendo los géneros y porcentaje respectivos detallados: *Vibrio* 70%, *Staphylococcus* 17 %, *Pseudomonas* 11%, *Aeromonas* 1%, *Enterobacter* 1% y *Klebsiella*1%.

Palabras claves: Aislamiento, identificación, microbiota, cultivos bacterianos.

ABSTRACT

Flounder, *Paralichthys adspersus* is a promising species for cultivation because it has a high demand and commercial value, is an overexploited resource, which has encouraged the development and implementation of technologies for commercial or repopulation in Chile and in Peru purposes. Knowledge of the microbiota of fish in culture allows us to establish new strategies for disease management, nutrition and others. Currently no work has been characterized where bacteria juvenile *P. adspersus* grown in pond, so the characterization of bacterial microbiota was performed by isolating skin samples, kidney, spleen, liver and intestine. 10 specimens were used per sample, performing three different sampling periods, for isolation culture media was used TSA, AS, McConkey agar, GSP and TCBS, a total of 159 bacterial cultures of which the total were isolated 18 were identified by the miniaturized system: API 20E (5) and API20NE (13), and detailed respective genres percentage: *Vibrio* 70%, *Staphylococcus* 17%, *Pseudomonas*11%, *Aeromonas* 1%, *Enterobacter* 1% and *Klebsiella*1%.

Keywords : Isolation, identification , microbiota , bacterial cultures.

I. INTRODUCCION

La acuicultura es una de las principales fuentes de alimento en el mundo, según FAO (2014) experimentó un alto crecimiento promedio anual de 10,8 % y 9,5 % durante las décadas de 1980 y 1990, respectivamente; sin embargo, la tasa bajó a un promedio de 6,1 % en el período 2002-2012. La producción acuícola mundial en el 2012 fue de 44,2 millones de TM de peces (66 %), 15,2 millones de TM de moluscos (23 %), 6,4 millones de TM de crustáceos (10 %) y 0,9 millones de TM de otras especies de animales acuáticos (1 %). Si bien indican las cifras que la producción mundial acuícola de peces en el 2012 superaron el 50 % respecto a las demás especies cultivadas, solamente el 2.4 % de este porcentaje corresponde a peces marinos y de estos el 8.3 % a peces planos dentro de ellos platijas, halibuts y lenguado (FAO, 2014), por ello existe la necesidad de diversificar las especies cultivadas; así también el Perú ha experimentado un ascenso en los últimos años, con respecto al desembarque de lenguado 262, 142 y 143 TM para los años 2015, 2014 y 2013 respectivamente; así también se ha notado un progresivo aumento en la producción acuícola de lenguado 4.41, 3.38, 3.27 y 1.02 para los años 2015, 2014, 2013 y 2012 respectivamente. Actualmente existen solo dos departamentos con autorizaciones para realizar los cultivos, Ancash e Ica, el 99,77% de la producción acuícola proviene del departamento de Ancash, del cual el 53.74% es destinado para el proceso de congelado y la diferencia para la venta interna (PRODUCE, 2015).

El lenguado, *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867) es una especie promisoría para su cultivo por su carácter endémico, mercado, avance tecnológico obtenido, además de ello por ser una especie perteneciente a un grupo interesante para el resto de Latinoamérica (Silva & Oliva, 2010), cuya distribución abarca desde Paita (Perú) hasta Lota e Islas Juan Fernández (Chile) (Chirichigno, 1974). Esta especie es un recurso sobreexplotado, lo que ha incentivado el desarrollo e implementación de tecnologías para fines comerciales o de repoblamiento tanto en Chile como en Perú (Piaget, 2010).

En Chile, estudios realizados a *P. adspersus* se realizaron con el objetivo de analizar las posibilidades de conocer la especie y lograr diversificar la acuicultura marina. Silva & Oliva (2010) manifiestan que el cultivo de lenguado en Chile no se ha desarrollado a un nivel superior al actual, por falta de información biológico-técnico, es por ello que no ha accedido aún, a las condiciones tecnológicas que permitan una replicabilidad; motivo por el que, los países que apuestan por el desarrollo de la acuicultura están invirtiendo en estudios como la criopreservación (Catcoparco *et al.*, 2012) la reproducción (Carrera *et al.*, 2013), alimentación (Kong *et al.*, 1995), crecimiento (Angeles & Mendo, 2005) sobrevivencia, aspectos biológicos y de cultivo (Silva & Oliva, 2010); así también como aspectos patológicos (Miranda & Rojas, 1996) puntos importantes para el próspero desarrollo del cultivo.

En el Perú, desde el año 1998 se viene realizando cultivo a nivel experimental de *P. adspersus* en el Centro de Acuicultura Morro Sama -Tacna promovido por el Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero - FONDEPES, pero hace algunos años la empresa privada (Pacific Deep Frozen S. A.) se ha interesado en desarrollar el cultivo a escala piloto comercial mediante la instalación de una Planta de Acuicultura en Boca Ballenas ubicada en Huarney - Ancash, implementado con un sistema de recirculación acuícola, para obtener un mejor desarrollo del cultivo, pese a ello diversos eventos relacionados al medio ambiente acuático o de manejo de los peces pueden conducir a alteraciones de la salud de los peces; especialmente por efecto de tipo infecciosas y no infecciosas (Centeno *et al.*, 2004), esto implica abordar conocimientos de microbiota bacteriana frente a posibles problemas en cualquier etapa del cultivo, Alvarez & Agurto (2000) manifiestan que, los animales cultivados a pesar de estar en condiciones de mayor control sanitario, también son portadores de bacterias patógenas para el pez y el hombre, estudios han demostrado la presencia de patógenos bacterianos en peces incluyendo a *Aeromonas* (Cerdá, 2015), *Edwardsiella tarda* (Castro 2011), *Vibrio* (Martínez-Díaz & Anguas-Vélez, 2002), entre otros, son responsables de elevadas mortalidades en peces silvestres y cultivados.

Los patógenos bacterianos son componentes usuales de la microbiota bacteriana de ambientes acuáticos, por lo que es necesario contar con información relativa al tipo y a la diversidad específica de la microbiota bacteriana de peces y de su entorno siendo estos patógenos potenciales ante un descenso de las defensas orgánicas de los peces, causada por una serie de factores estresantes, ambientales y nutricionales (Alvarez & Agurto, 2000). Desde el punto de vista económico, las principales patologías infecciosas que afectan el cultivo de lenguado, son de origen bacteriano, asociado a problemas de mortalidad, entre ellas tenemos: *Solea spp*, *Photobacterium damsela* subsp. *Piscicida pasteurelosis* y *Tenacibaculum (Flexibacter) maritimus*, *Vibrio anguillarum*, la existencia de enfermedades bacterianas con implicaciones económicas para la industria acuícola ha demandado el uso de antibióticos en la prevención y tratamiento de estas enfermedades y en muchos casos a generado resistencia a los antibióticos (Labella *et al.*, 2013).

Lo anterior ha incrementado el interés en los avances científicos y tecnológicos relacionados con los factores que influyen directamente en la rentabilidad económica, incluyendo la eficiencia alimenticia, la velocidad de crecimiento, así como la salud y la resistencia a enfermedades (Burr & Gatlin, 2005). Actualmente no existen trabajos científicamente reportados donde se haya caracterizado a las bacterias de *P. adspersus* “lenguado”, por ello, consideramos que la presente investigación se justifica porque va a permitir conocer parte de su biología e investigaciones posteriores puedan tomar como punto de partida la microbiota ya identificada.

El conocimiento de la microbiota de los peces en cultivo nos permite establecer nuevas estrategias para el manejo de enfermedades, desde los criterios de prevención, posteriormente tratarlas y controlarlas. Para el control de enfermedades es necesario conocer no sólo la virulencia del agente etiológico, sino también su modo de transmisión y la epidemiología de la enfermedad, que podrían poner en riesgo las futuras producciones acuícolas de *P. adspersus*. En la actualidad cada vez más se investiga sobre los aspectos benéficos o antagónicos de la interacción de algunas especies

bacterianas y los demás componentes del ciclo microbiano; así por ejemplo los vibrios han sido identificados como mediadores significativos de interacciones antagonistas entre bacterias marinas (Long & Azam, 2001). Sin embargo, este conocimiento se encuentra disperso y aún muestra, comparativamente con otras especies cultivables, una moderada replicabilidad de los resultados, lo que implica la necesidad de persistir en la optimización de algunos aspectos de su cultivo, para impulsar definitivamente su desarrollo.

Evidentemente es la necesidad, frenar las infecciones bacterianas producidas durante la etapa de engorde para que el cultivo de lenguado progrese. El estudio abre las posibilidades para pronosticar la aparición de una proliferación y tomar medidas para prevenirla, lo que podría ahorrar millones en pérdidas económicas en todo el mundo.

Esta circunstancia es la que en la actualidad está limitando la producción comercial de lenguado, y su investigación deberá tener prioridad (Cañavate, 2005) y frente a ello, se planteó el siguiente problema ¿Cuál será la caracterización bioquímica de la microbiota bacteriana de juveniles de *Paralichthys adspersus* “lenguado” cultivados en estanque (Huarmey, Perú)?

El presente trabajo tiene como objetivo general: Caracterizar bioquímicamente la microbiota bacteriana de juveniles de *P. adspersus* “lenguado” cultivados en estanque (Huarmey, Perú). En tanto, los objetivos específicos son:

- Aislar bacterias en juveniles de *P. adspersus* “lenguado” cultivados en estanque (Huarmey, Perú).
- Identificar bacterias, mediante pruebas bioquímicas convencionales y los sistemas miniaturizados API® en juveniles de *P. adspersus* “lenguado” cultivados en estanque (Huarmey, Perú).

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Muestreo, transporte y aclimatación de ejemplares juveniles de *P. adspersus*.

Se analizaron en total 30 ejemplares de juveniles de *P. adspersus*, tres muestreos en diferentes periodos. Provenientes del sistema de cultivo en estanque (Huarney, Perú), con 24 horas de ayuno y aparentemente sanos, los cuales se encontraron bajo parámetros de cultivo adecuado como se muestra en el Anexo 1.

Los ejemplares muestreados fueron acondicionados en bolsas de polietileno (50 x 80 cm) con agua y en oxígeno en proporción de 1:3 respectivamente, se sujetaron con ligas y se colocaron en cajas térmicas de poliestireno, con hielo (FAO, 2009) y fueron trasladados al laboratorio de Microbiología del IMARPE (Callao, Perú). En el laboratorio se procedió a aclimatar las muestras por dos horas, para luego sedarlos, sumergiéndolos por 15 minutos en una solución que contenía Tricaína metano-sulfonato en una concentración de 30 mg/l (Confederación Hidrográfica del Ebro. 2005). Se registró el peso con una balanza analítica 0.1 g de sensibilidad y la longitud con un ictiómetro de 0.01 mm.

2.2 Diagnóstico de campo y anatomopatología macroscópica

El diagnóstico de campo consistió en la observación de signos clínicos externos y alteraciones del comportamiento de los ejemplares en cultivo y la anatomopatología macroscópica, consistió en observar la superficie externa del pez con el fin de detectar manifestaciones anormales o algún signo clínico, como coloración del cuerpo, presencia de exoftalmia, pérdida de las escamas, congestión y ulceración, hinchamiento y necrosis de las aletas, erosión de los bordes de los opérculos, presencia de parásitos adultos o larvales (OIE, 2008; FAO, 2011).

2.3 Diagnóstico e identificación bacteriológica

2.3.1. Acondicionamiento y Disección de ejemplares

Cada ejemplar de *P. adspersus* se colocó sobre una bandeja de disección debidamente desinfectada, con el lado izquierdo del pez hacia arriba, luego se tomó una muestra de raspado de piel. Posteriormente se desinfectó al pez con algodón embebido de alcohol a 70°, para realizar una disección con un bisturí estéril N° 2, mediante un corte transversal en un punto inmediatamente anterior al ano en una posición entre éste y las aletas pélvicas evitando cualquier daño al intestino.

2.3.2. Muestreo y procesamiento de órganos.

En forma aséptica se extrajo el riñón, bazo e hígado por separado, se trituró en una placa petri estéril codificada, a la cual se le agregó 5 ml de solución salina al 0,85 % estéril (Ruíz, 2011). Para tomar el contenido del intestino, se raspó el contenido intestinal y se lavó 3 veces el lumen intestinal usando agua peptonada, para asegurar la recolección de las bacterias adherentes y no adherentes (Wittwer, 2012).

2.3.3. Siembra y aislamiento

Las muestras obtenidas en forma aséptica se sembraron en los medios TSA (Agar Soya Tripticasa), medio de cultivo universal, utilizado para el cultivo de una amplia variedad de microorganismos de acuerdo a los requerimientos nutricionales, AS (Agar Sangre), para el aislamiento de bacterias anaerobias estrictas y facultativas, para la determinación de hemólisis, Mc Conkey, sirve para diferenciar lactosa positiva como la *E.coli*, de lactosa negativas como *Salmonella spp.* (Stanchi, 2007), TCBS (Tiosulfato Citrato Sales biliares Sacarosa), es un medio selectivo de diferenciación para el aislamiento y cultivo de *Vibrio cholerae* y otras especies de *Vibrio* y GSP (Glutamato Almidón Rojo de fenol), agar selectivo para *Pseudomonas-Aeromonas*.

Todos los medios se incubaron a 37 °C por 48 horas, observando el crecimiento a las 24 horas de incubación.

Para los medios TCBS y GSP, antes de la siembra se enriqueció la muestra

en caldo APA con 1 % de NaCl. (5 ml del triturado y 45 ml APA) y se incubó a 37 °C por 24 horas (Ruíz, 2011).

2.3.4. Identificación

2.3.4.1. Por método convencional

A partir de los cultivos puros aislados se realizó:

- Tinción Gram
- Oxidasa, determina la presencia de enzimas oxidasas.
- Agar Triple azúcar- Hierro (TSI), para determinar la capacidad de un microorganismo para atacar los carbohidratos Glucosa, Lactosa y/o Sacarosa, con producción o no de gases (CO₂ y H₂) junto con la producción o no de ácido sulfhídrico (H₂S).
- SIM, determina la capacidad de un microorganismo de moverse (presencia de flagelos), de producir Indol y H₂S.
- Lisina Hierro Agar (LIA), determina la capacidad de un microorganismo para atacar el aminoácido Lisina, descarboxilándolo o desaminándolo.
- Rojo Metilo, Voges-Proskauer, determina porque vía metabólica fermenta la glucosa la bacteria.
- Hugh Leifson O/F, determina si una bacteria presenta metabolismo fermentativo u oxidativo de los carbohidratos.
- Citrato, determina la capacidad de un microorganismo de emplear el Citrato como única fuente de carbono en ausencia de fermentación de azúcares o de producción de ácido láctico.
- Crecimiento en NaCl al 0 %, 1 %, 3 %, 6 % 8 % y 10 % (*Vibrio*); como se detallan en Holt *et al.* (1994).

Adicionalmente a los cultivos bacterianos aislados de medio GSP se sembraron en Agar Sangre para observar el tipo de hemólisis que presentaban; así también a aquellas que presentaron viraje del medio GSP, se les realizó la prueba del vibriostático 0/129 (Faune, 2003) y el crecimiento en 6,5 % NaCl.

2.3.4.2. Prueba de vibriostático 0/129

A partir de los cultivos bacterianos aislados y activados en medio TSB por 24 horas a 37 °C, se sembraron en TSA por 24 horas a 37°C, comprobándose su pureza mediante una tinción Gram a partir de las colonias desarrolladas.

A partir de una colonia se realizó una suspensión en un tubo con solución salina a 0.85 % comparándolo por turbidimetría con el tubo 1 del Nefelometro de Mc Farland. A partir de esta suspensión y con la ayuda de un hisopo estéril se realizó una siembra en superficie en placa con Agar Miüller Hinton con 1 % de NaCl, antes de colocar los discos en el centro de la placa se dejó secar por 10 minutos aproximadamente en la Cabina de Bioseguridad, se incubó a 37 °C por 24 horas para su posterior lectura.

2.3.4.3 Por sistemas miniaturizados API®

Para utilizar las pruebas miniaturizadas API®, primero se realizó la prueba con una cepa patrón de *Aeromonas* (ATCC 49140), para confirmar el buen estado del producto y evitar falsos resultados.

Se activaron los cultivos bacterianos entre 18 y 24 horas, posteriormente se realizaron tres activaciones consecutivas para asegurar su pureza, a partir de los cuales se realizaron prueba de oxidasa. Los cultivos Oxidasa (+) se realizaron el test API 20 NE y para los cultivos Oxidasa (-) el test API 20 E.

SISTEMA API 20 NE

La galería API 20 NE está conformada por 20 microtubos que contienen sustratos deshidratados, con diferentes reacciones metabólicas, que combinan 8 ensayos convencionales y 12 ensayos de asimilación, como se muestra en el anexo.

Las pruebas bioquímicas que integran para los **ensayos convencionales** están conformados por: Nitrato potásico, L-triptófano, D-glucosa (GLU), L-arginina (ADH), urea (URE), esculina citrato férrico (ESC), gelatina (GEL), 4-

nitrofenil-βD-galactopiranosida (PNPG); mientras que los **ensayos de asimilación** están conformados por: (D-glucosa (GLU), L-arabinosa (ARA), D-manosa (MNE), D-manitol (MAN), N-acetil-glucosamina (NAG), D-maltosa (MAL), gluconato potásico (GNT), ácido cáprico (CAP), ácido adípico (ADI), ácido málico (MLT), citrato trisódico (CIT), ácido fenilacético (PAC).

Para realizar la prueba de los ensayos convencionales se cogió el inóculo y se llevó a densidad de 0.5 a escala MC Farland, se procedió a llenar los 8 primeros microtubos a excepción de la cúpula (parte superior y descubierta del microtubo), con la ayuda de una pipeta Pasteur. Se adicionó aceite mineral a las cúpulas de los siguientes tubos: GLU, ADH, URE para generar una condición anaeróbica.

Mientras que para realizar la prueba de los ensayos de asimilación se extrajo 200 ul de la suspensión 0.5 de la escala MC Farland y se homogenizó en la ampolla API AUX medium (Compuesto por los siguientes nutrientes: Sulfato amónico 2 g, agar 1,5 g, solución de vitaminas 10,5 ml, solución de oligoelementos 10 ml, fosfato monosódico 6,24 g, agua desmineralizada csp 1000 ml), luego se procedió a llenar los microtubos hasta la cúpula. La galería de microtubos se incubó a 30 °C por 24 horas para una primera lectura y una reincubación por 24 horas para los casos de débil discriminación.

La interpretación de los resultados se basó en la observación de las coloraciones desarrolladas, ésta se llevó a cabo mediante la comparación del color obtenido en cada microtubo con el que muestra la carta de colores. De acuerdo a esa interpretación se puede establecer un resultado positivo (+) o negativo (-), los resultados obtenidos en cada microtubo se colocaron en la hoja de resultados que suministra el fabricante.

Los datos así obtenidos se transformaron en un código de 7 dígitos denominado “perfil numérico” que resulta de la suma de los valores correspondientes a las pruebas positivas asignados previamente en la planilla, como se observa en la *Figura 1*. El código obtenido se correspondió a un

determinado género o especie de acuerdo a la información contenida en las bases de datos suministradas por el fabricante, para el ejemplo fue *Aeromona hydrophila*.

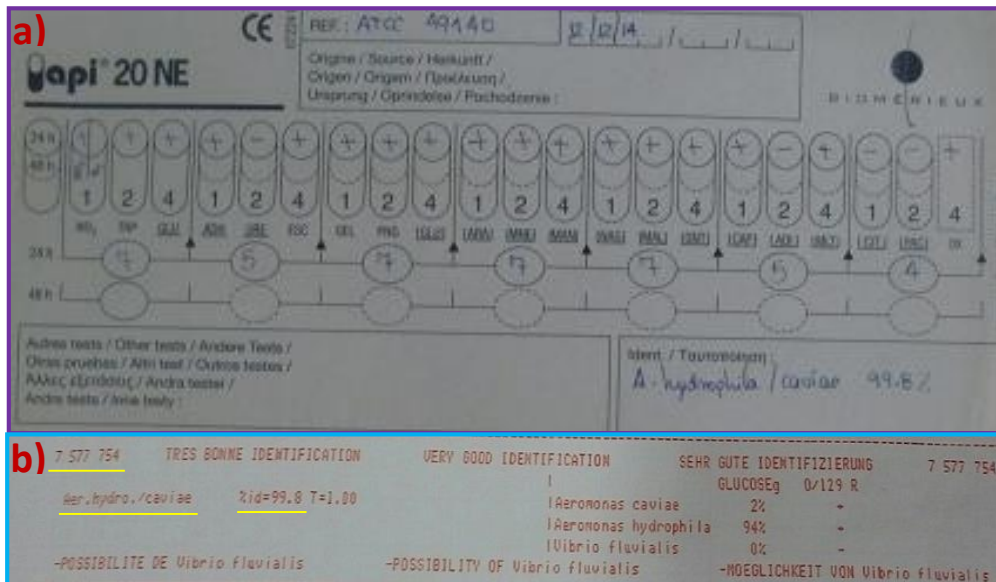


Figura 1. Cartilla API 20 NE (a) y Clave identificadas, para el caso de *Aeromona hydrophila* (Código: 7577754).

SISTEMA API 20E

La batería de pruebas API 20 E es un sistema de identificación rápida para bacterias de la familia Enterobacteriaceae y otras bacterias Gram negativas. Básicamente consta de 21 tests bioquímicos estandarizados y miniaturizados, y una base de datos. Este sistema presenta las ventajas de ser rápido, eficaz y de permitir realizar numerosas pruebas a la vez. Cada tira de API 20 E contiene 20 microtubos o pocillos con distintos sustratos deshidratados. Cada tubo es una prueba bioquímica distinta. La prueba número 21, la oxidasa, se hace de forma independiente. Las pruebas de que consta la galería son las siguientes:

Tabla 1. Pruebas que consta la galería API 20 E

| Prueba | Reacción / Enzimas |
|-----------------------|--|
| ONPG | Beta-galactosidasa |
| ADH | Arginina deshidrolasa |
| LDC | Lisina descarboxilasa |
| ODC | Ornitina descarboxilasa |
| CIT | Utilización del citrato |
| H₂S | Producción de H ₂ S |
| URE | Ureasa |
| TDA | Triptófano desaminasa |
| IND | Producción de indol |
| VP | Producción de acetoina (Voges-Proskauer) |
| GEL | Gelatinasa |
| GLU | Fermentación/oxidación de glucosa |
| MAN | Fermentación/oxidación de manitol |
| INO | Fermentación/oxidación de inositol |
| SOR | Fermentación/oxidación de sorbitol |
| RHA | Fermentación/oxidación de ramnosa |
| SAC | Fermentación/oxidación de sacarosa |
| MEL | Fermentación/oxidación de melobiosa |
| AMY | Fermentación/oxidación de amigdalina |
| ARA | Fermentación/oxidación de arabinosa |
| OX | Citocromo oxidasa |

A partir de un cultivo puro de la bacteria aislada, se hizo una suspensión en 5 ml de solución salina (0.85 % de NaCl), la que fue colocada en los tubos, no la cúpula (cada pocillo tiene un tubo y una cúpula, parte aerobia), de todos los pocillos.

Se llenó la cúpula de los pocillos CIT, VP, GEL con la suspensión de bacterias.

Y se cubrió con parafina las cúpulas de los pocillos ADH, LDC, ODC, URE, H₂S para obtener anaerobiosis, como lo indica el inserto.

Se colocó la tira en su propia cámara húmeda de incubación. Previamente se llenó agua en los alvéolos de la cámara para proporcionar una atmósfera húmeda durante la incubación.

Se incubó a 37 °C durante 18-24 h.

Para la interpretación de los datos se procede de la misma manera que el API 20 NE, solo que posee su propia cartilla y su libro de base de datos.

2.3.5. Conservación de los cultivos puros bacterianos

Los cultivos puros bacterianos se sembraron en frascos con agar TSA inclinado, para ser conservados por periodos cortos en medio ambiente, y en frascos con caldo TSB suplementado con 10 % de glicerol y mantenidos a - 4 °C (Carvalho *et al.*, 2015) para ser conservados por periodos largos.

III. RESULTADOS

Los porcentajes de aislamientos bacterianos a partir de los diferentes órganos muestreados de *P. adspersus* “lenguado”, se observa en la *Figura 2*, registrándose mayor presencia bacteriana en el intestino y piel, 34 % y 31 % respectivamente, siendo estos los órganos con mayor contacto y relación con el medio que los rodea.

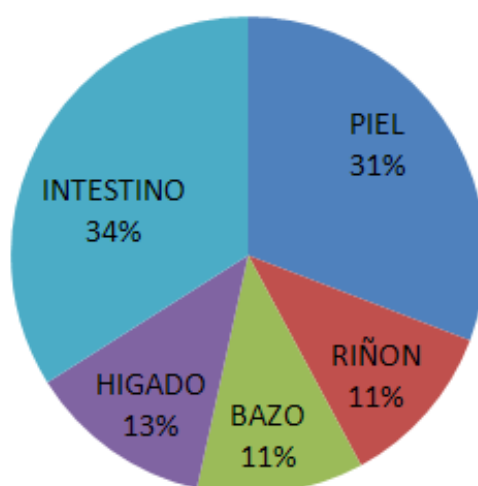


Figura 2. Porcentaje de cultivos bacterianos aislados por órgano de juveniles de *P. adspersus* “lenguado” cultivados en estanque (Huarney, Perú)

Las bacterias aisladas en los medios de cultivos TSA, GSP y TCBS, provenientes de los órganos, registraron un total de 159 cultivos puros bacterianos, de las cuales el 82 % corresponden a bacterias Gramnegativas y 18 % a bacterias Grampositivas como se muestra en la *Figura 3*. La identificación mediante pruebas bioquímicas según Holt *et al.* (1994) de los cultivos bacterianos aislados se muestran en los anexos 9, 10, 11 y 12.

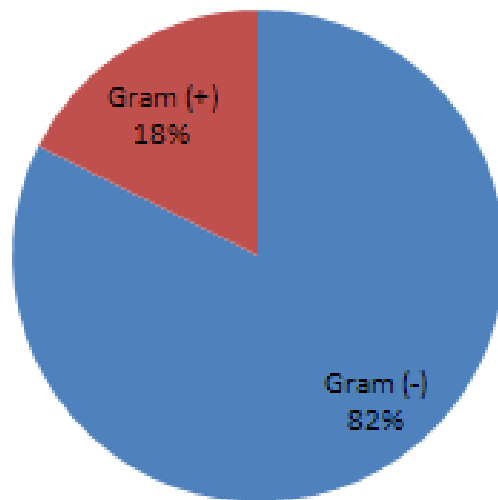




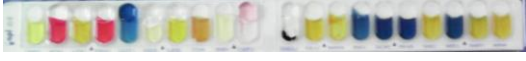















Figura 3. Porcentaje de bacterias Gram (+) y Gram (-) encontradas en juveniles de *P. adspersus* “lenguado” cultivados en estanque (Huarney, Perú)

A todos los cultivos bacterianos aislados se les realizaron pruebas bioquímicas convencionales, de las cuales se seleccionaron 18 cultivos bacterianos para la realización mediante los Sistemas miniaturizados API®. Se tomaron en cuenta los cultivos bacterianos que presentaron similitudes o semejanzas en las reacciones a las diferentes pruebas bioquímicas, así como, en el caso de cultivos que presentaron reacciones únicas o pocos usuales a las pruebas bioquímicas

Teniendo en cuenta lo anterior se identificaron los cultivos: 10 del género *Vibrio*, 4 del género *Pseudomonas*, 2 a *Aeromonas*, 1 a *Klebsiella* y 1 a *Enterobacter*, tal como se muestra en la Tabla 2:

Tabla 2. Cultivos bacterianos seleccionadas e identificadas con el Sistema miniaturizados API®

| Código | Medio de cultivo aislado | Sistema miniaturizados API®. | Género y especie identificada |
|--------|--------------------------|--|--------------------------------|
| P10R | GSP |  | <i>Pseudomonas cepacia</i> |
| 2P2Ib | GSP |  | <i>Pseudomonas alcaligeses</i> |
| 2P2Pa | GSP |  | <i>Aeromonas hydrophila</i> |
| 2P2Pb | GSP |  | <i>Klebsiella pneumoniae</i> |
| 2P3P | GSP |  | <i>Pseudomonas cepacia</i> |
| 2P4I | GSP |  | <i>Enterobacter sakazakii</i> |
| 2P6Ia | GSP |  | <i>Aeromonas hydrophila</i> |
| 2P7I | GSP |  | <i>Pseudomonas cepacia</i> |
| 2P9I | GSP |  | <i>Vibrio alginolyticus</i> |
| 2P1I | TCBS |  | <i>Vibrio parahemolyticus</i> |
| 2P2Ia | TCBS |  | <i>Vibrio alginolyticus</i> |
| 2P5Ra | TCBS |  | <i>Vibrio alginolyticus</i> |
| 2P5Rb | TCBS |  | <i>Vibrio alginolyticus</i> |
| 2P7Ib | TCBS |  | <i>Vibrio alginolyticus</i> |
| 2P9Ia | TCBS |  | <i>Vibrio alginolyticus</i> |
| 2P10Ib | TCBS |  | <i>Vibrio alginolyticus</i> |
| 3P3P | TCBS |  | <i>Vibrio alginolyticus</i> |
| 3P7I | TCBS |  | <i>Vibrio alginolyticus</i> |

La confirmación de los cultivos bacterianos correspondientes a los géneros y especies descritas anteriormente, sirvieron como patrón (en la mayoría de casos) y de esta manera establecer géneros, como se muestra en la Figura 4., predominando *Vibrio* sobre los demás con un 70 %, mientras que los géneros *Aeromonas*, *Enterobacter* y *Klebsiella* solo representan el 3% del total. Para el caso de los cocos Grampositivos, las pruebas bioquímicas se basaron en catalasa y coagulasa los cuales presentaron resultados uniformes, presuntivamente se estaría considerando una sola especie presente en los organismos, estas pruebas difieren de los Gram negativos.

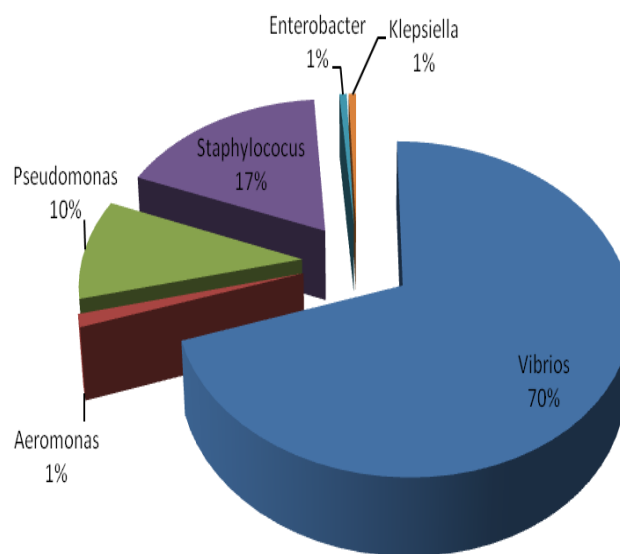


Figura 4. Cultivos bacterianos según géneros aislados de juveniles de *P. adspersus* “lenguado” cultivados en estanque (Huarmey, Perú).

Cabe mencionar que si bien la mayoría de *Vibrio*, *Pseudomonas* y *Staphylococcus* se encuentran presentes en los 3 muestreos como se representa en la Figura 5, tenemos géneros como *Aeromonas*, *Enterobacter* y *Klebsiella* que solo se presentan en el segundo muestreo que también reporta la mayoría de cepas bacterianas aisladas.

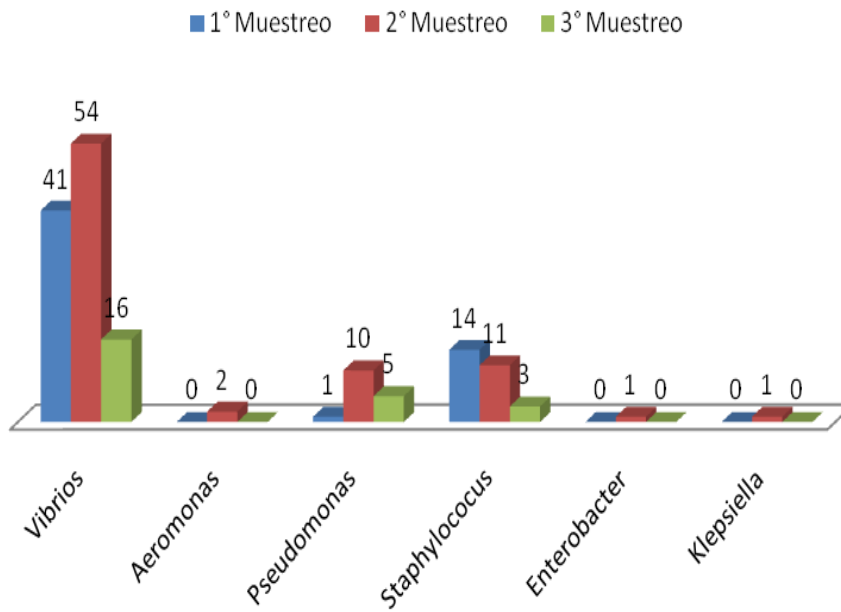


Figura 5. Cultivos bacterianos aislados de juveniles de *P. adspersus* “lenguado” cultivados en estanque (Huarney, Perú) según género por muestreo.

De los tres muestreos realizados, se observó alta presencia de cultivos bacterianos aislados correspondientes al segundo muestreo en relación con el primer y tercer muestreo en los cuales el aislamiento fue mucho menor, Figura 6.

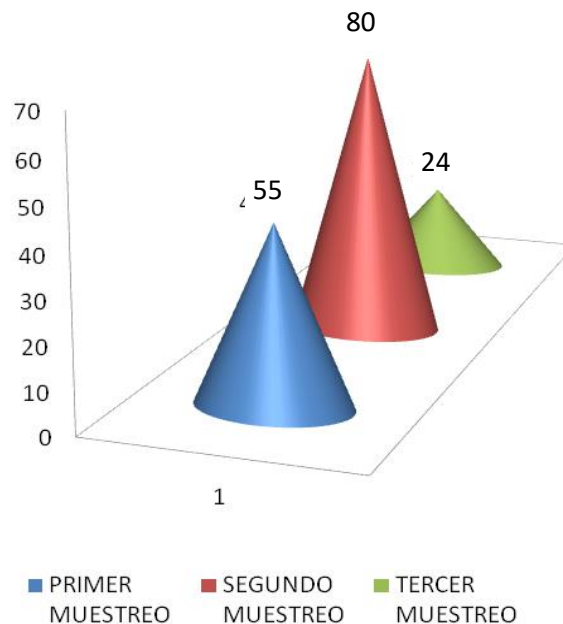


Figura 6. Número de cultivo bacterianos por muestreo, de juveniles de *P. adspersus* “lenguado” cultivados en estanque (Huarney, Perú).

El género *Vibrio* fue el más predominante en la mayoría de cultivos bacterianos aislados, a los que se les realizó pruebas bioquímicas y en algunos casos se confirmaron por sistemas miniaturizados API, sirviendo como patrones para comparar y establecer la presuntiva especie en los cultivos restantes, estableciéndose 3 especies del género, mostrados en la *Figura 7*, donde el *Vibrio alginolyticus* representa el mayor porcentaje.

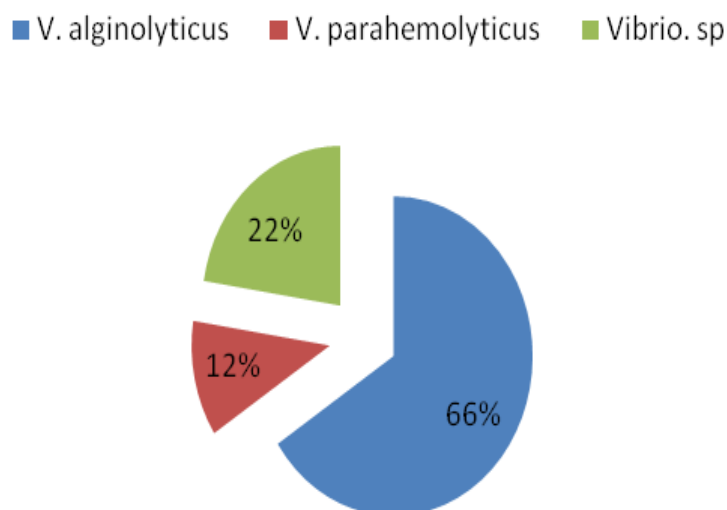


Figura 7. Porcentaje de las diferentes especies de *Vibrio* aislados de juveniles de *P. adspersus* “lenguado” cultivados en estanque (Huarmey, Perú).

La prueba de vibriostático O/159 para discriminar el género *Aeromonas* del *Vibrio*, se empleó debido a que este último presentó también un crecimiento en medio GSP y viraje similar al de *Aeromonas*, haciéndose necesaria la utilización de la prueba. Tras la realización de la prueba se obtuvo que el 95 % de bacterias aisladas pertenecientes al género *Vibrio* y solo el 5 % al de *Aeromonas* (*Figura 8*).

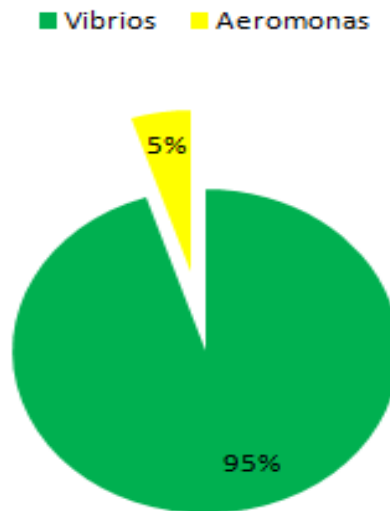


Figura 8. Porcentaje de crecimiento bacteriano en el medio GSP aislados de juveniles de *P. adspersus* “lenguado” cultivados en estanque (Huarmey, Perú)

IV. DISCUSION

El aislamiento bacteriano obtuvo predominio de bacterias Gramnegativas sobre las Grampositivas, con 82 %, como se muestra en la Figura 3, el cual se relaciona con los estudios realizados en tilapia donde reportan la microbiota bacteriana aeróbica de ejemplares sanos y de su medio ambiente, constituida por bacilos: 98 % Gramnegativas y 2 % Grampositivas (Morales *et al.*, 2004); del mismo modo Álvarez & Agurto (2000) encontraron la predominancia de los bacilos Gramnegativos pertenecientes a los géneros *Aeromonas* y *Plesiomonas*, además de miembros de la Familia *Enterobacteriaceae*, con menores proporciones de *Pseudomonas*, *Vibrio*, así mismo, según Torrela (1999), la mayoría de bacterias marinas son Gramnegativas, en una proporción de 80 % en las costas; mientras que en los cultivos de agua de mar esta proporción aumenta al 95 %. Lo mencionado anteriormente conlleva a ratificar que las condiciones marinas son muy favorables para el desarrollo de bacterias Gramnegativas. Con respecto a la presencia de bacterias Grampositivas en las muestras de los órganos (Figura 4), si bien es cierto no es común su presencia por su patogenicidad, autores como Velasco & Yamasaki (2009) describe la presencia del género *Staphylococcus* en la piel y mucosas de los animales; del mismo modo León *et al.* (2010) hace mención de la presencia de estas bacterias específicamente del género *Staphylococcus* provenientes de invertebrados marinos. De esta manera confirmaríamos que la presencia de bacterias Grampositivas en organismos marinos no es ajena a ello, pero no se descartaría que dicha presencia se deba a un factor epidemiológico que afecte a la especie.

El aislamiento de bacterias por órgano se observó mayor en el intestino de los ejemplares y según Urakawa & Rivera (2006) el tracto digestivo de organismos marinos posee mayor disponibilidad de materia orgánica que el agua de mar, transformándose en un ambiente apropiado para *Vibrio*, aunque en este micro ambiente están expuestos a un pH bajo, secreción de ácido bílico y a condiciones microanaeróbicas, ello explica el mayor porcentaje de bacterias aisladas de juveniles de *P. adspersus* correspondan al intestino, teniendo como

predominante al género *Vibrio* (80 %) seguido de *Staphylococcus* (16 %) y *Aeromonas* (4 %), tal como se muestra en la Figura 4; por otro lado un estudio realizado en *Salmo salar* y trucha de mar *Salmo trutta trutta*, juveniles (0+ años), mostraron que la microbiota predominante en el tracto intestinal de la trucha de mar fueron *Enterobacterias* (52 %), *Aeromonas* (22 %) y *Pseudomonas* (14 %) (Skrodenyte-Arbaciauskiene *et al.*, 2008). La microbiota gastrointestinal juega un papel importante e influye de manera indirecta sobre la nutrición y la salud de los animales en general; por esto mismo, al alterarla se afecta el estado fisiológico de los organismos, el crecimiento, su desarrollo general y la calidad final del producto (Al-Harbi & Uddin, 2005). En los animales acuáticos, la microbiota intestinal no existe como una entidad absoluta sino que hay una interacción constante entre la microbiota del ambiente y la del pez, de tal forma que los hospederos y los microorganismos comparten un mismo ecosistema y estos últimos tienen la opción de vivir en asociación o bien de manera independiente.

En el caso del aislamiento en piel de *P. adspersus* lenguado, se aislaron los géneros *Vibrio*, *Staphylococcus* y *Pseudomonas* con un porcentaje de 61 %, 27 % y 12 % respectivamente, según la Figura 2 y la Figura 3; estos géneros se estarían observando porque respecto al sistema inmunitario que poseen, el complemento inmunitario en la piel de los peces tiene actividad bacteriana contra cepas no virulentas de bacterias Gram negativas, pero no contra bacterias Gram positivas ni cepas virulentas de bacterias Gram negativas (Rubio-Godoy M, 2010), sumado a ello, la presencia de bacterias se debería a que los organismos en sistema de cultivo viven bajo condiciones controladas para promover su crecimiento y desarrollo; sin embargo, se encuentran rodeados por microorganismos que comparten su mismo ambiente (Verschuere *et al.*, 2000; Al-Harbi & Uddin, 2005); así mismo, Austin, 2006; Ringø *et al.*, 2010; manifiestan que los peces tienen una influencia mucho mayor en la composición bacteriana y el estado de salud debido al contacto constante con el agua. Los resultados nos estarían indicando que la presencia de estas bacterias encontradas en piel también podrían estar presente en los estanques, a los que se tendrían que determinar su patogenicidad.

Respecto a la presencia de bacterias presentes en los órganos internos como bazo, intestino, riñón e hígado (Figura 2), Soriano-Vargas *et al.* (2010), realizó estudios bacteriológicos analizando bazo, riñón e intestino entre otros órganos, afirmando que el aislamiento a partir de intestino es común debido a la exposición al medio acuático mientras que el aislamiento bacteriano a partir de órganos internos implica infección, colonización y posible producción de daño; así también O'Hara & Shanahan, 2006; indican que la microflora puede ser vista como un “órgano adicional” ya que tiene un rol clave en desarrollo intestinal, homeostasis y protección y hoy está claro que tiene gran influencia en crecimiento, salud y desarrollo de todos los vertebrados. En tal sentido suponemos que tanto los géneros encontrados y la cantidad del aislamiento en órganos asépticos se deberían a un posible riesgo que se encontraría dicha población de peces, puesto que los ejemplares muestreados no presentaron ningún signo que adjudicaría una posible enfermedad.

En la tabla 4 los resultados referentes a la observación macroscópica indica que los juveniles de *P. adspersus* analizados, no mostraron manifestaciones clínicas de enfermedad, Goberna (2004), nos menciona que las enfermedades tienen sus propios ritmos que se van modificando a lo largo del tiempo y que para su detección es necesario emplear o apoyarse en técnicas como lo son los métodos de diagnóstico ya que pueden darse casos de enfermedades que permanecen asintomáticas, por otro lado Tanno & Tanno (2005) se refieren a dicho grupo, de enfermedades asintomáticas, que incluye a todas aquellas enfermedades que no expresan síntomas desde su comienzo hasta su curación. Debido a la presencia de bacterias patógenas se asume que posiblemente se encontraban en un estado de asintomático o en cuadro subclínico como portador, probablemente porque la carga microbiana no sobrepasaba los niveles para manifestarse como enfermedad y poder desencadenar un cuadro clínico.

Del total de bacterias identificadas el 70% corresponde a *Vibrio* (Figura 4) y de estos el 66 % a *V. alginolyticus*, tal como se muestra en la Figura 7, para Cavallo & Stabili (2004), los vibrios juegan funciones importantes en el ecosistema marino como biodegradación de la materia orgánica y regeneración de nutrientes; por otro lado Gil *et al.* (2007), manifiesta que algunas cepas de *V. parahaemolyticus* pueden ocasionar gastroenteritis en humanos siendo considerado un grupo pandémico; así también (Rowe-Magnus *et al.* 2006) menciona que en la actualidad las especies de vibrios patógenos para humanos está limitada sólo a 12 que son clínicamente significativas dentro de los cuales se encuentra *V. parahaemolyticus* y *V. alginolyticus*, que fueron encontrados en el estudio realizado. Las infecciones causadas por estos organismos contaminados están usualmente asociadas a la ingestión de moluscos y otras especies marina; los síntomas que manifiesta el paciente van desde gastroenteritis, infección a la piel, septicemia, llegando a la mortalidad en el caso de pacientes inmunocomprometidos o con bajas defensas. Esto conllevaría a realizar estudios exhaustivos y minuciosos para determinar la patogenicidad o no de las cepas (o cultivos) y tomar medidas de acuerdo a los resultados.

En relación al aislamiento de cultivos bacterianos utilizando medios selectivos, Martin-Carnahan & Joseph (2004); manifiestan que las especies de *Aeromonas* son generalmente inhibidos en TCBS, el medio selectivo para vibriones; mientras que en el medio del GSP, el glutamato y el almidón es degradado por *Aeromonas* con la producción de ácido que causa el rojo de fenol cambia al amarillo, caso contrario de las *Pseudomonas* que crecen sin degradar almidón y como inhibidor selectivo contamos con la penicilina y pimarcina las cuales se añaden al medio para suprimir el crecimiento de muchos microorganismos Grampositivos y hongos. Según la experiencia obtenida con el medio GSP se tuvieron ciertas discrepancias al obtener 95 % de crecimientos bacteriano de *Vibrio* y viraje del medio a amarillo (Figura 8), lo que ocasionaba confusión con las *Aeromonas*, para lo cual se realizó adicionalmente la prueba del vibriostático 0/129 150 mg; permitiéndonos confirmar la existencia de vibrios (Faune, 2003). Actualmente se están desarrollando nuevos métodos para identificar la

patogenicidad, ecología y distribución de *Vibrio*, además de evaluar aquellas especies que evaden los métodos convencionales de cultivo (Eiler *et al.* 2007). La prueba del vibriostático O/129 150 mg tiene como fundamento discriminar bacterias del género *Vibrio* del género *Aeromonas* que al ser sembradas y diseminadas uniformemente se forma un halo alrededor del disco para el caso del género *Vibrio* y la ausencia del halo para el género *Aeromonas*. Castro-Escarpulli *et al.* (2003) concluyen que la identificación acertada de las *Aeromonas* es compleja, ya que requiere la identificación genética, lo cual no está disponible para la mayoría de los laboratorios clínicos de nuestro país.

La presencia de *Aeromonas* se pudo evidenciar en el segundo muestreo como se muestra en la Figura 5 y 8, el 1 % corresponde a *Aeromonas* con un total de 2 cultivos bacterianos: 1 en piel y otra en el intestino, el porcentaje de *Aeromonas* es muy bajo en comparación a *Vibrio*. El género *Aeromonas* incluye microorganismos gramnegativos que residen en amplia variedad de ambientes, aunque su hábitat más frecuente son las aguas dulces en asociación con fauna acuática y sedimentos (Soriano-Vargas *et al.*, 2010). Algunas especies de *Aeromonas* infectan y ocasionan enfermedad en diversas especies animales, peces y humanos. El género *Aeromonas* puede ser diferenciados del género *Vibrio* por pruebas específicas (González *et al.*, 2004). Las *Aeromonas* comparten muchas características bioquímicas con los miembros de las enterobacterias, de las que se diferencian principalmente por ser oxidasa-positivo (World Health Organization. 2002). Asimismo se logró aislar solo en intestino y piel y frente a este acontecimiento González *et al.* (2009), manifiesta que la presencia de *Aeromonas sp.* es frecuente en las aguas dulces y más baja en aguas marinas donde prevalece el género *Vibrio* lo que concuerda con sus requerimientos con respecto a la concentración de sales. Además el estudio realizado por González *et al.* (2004) indica una notable presencia del género *Aeromonas* en diferentes ecosistemas acuáticos y la necesidad de considerar a estas bacterias como un elemento de riesgo vinculado a la calidad de las aguas según sus usos.

Vibrio sp., *Pseudomonas sp.* y *Aeromonas sp.* son las que en mayor proporción conforman comunmente la microbiota bacteriana observando una gran variedad de otras especies bacterianas, en la Figura 2 se muestra a *Vibrio* con 70 % y *Pseudomonas* con 10 %, resultados que se tendrían que tomar en cuenta para evaluar posibles enfermedades y prevenirlas, porque en condiciones adversas, o cuando los peces están fuertemente estresados, se observaron infecciones inespecíficas por parte de estas bacterias. Según DIGEPESCA (2007) las bacterias oportunistas pueden provocar altas mortalidades (10-15%) en estas condiciones no existe tratamiento químico preventivo que demuestre alta eficiencia para contrarrestar este problema; así también la alta densidad de organismos y nutrientes son característicos en sistemas de acuicultura lo cual facilita la proliferación de vibrios; se ha hipotetizado que las condiciones artificiales del medioambiente en sistemas de cultivo pueden constituirse como reservorio para vibrios patógenos (Ben-Haim *et al.* 2003); del mismo modo Souter (2000) manifiesta que los organismos en mención tienden a ser oportunistas más que los patógenos primarios, según los resultados obtenidos tanto *Vibrio*, que es el de mayor porcentaje, así como de las demás bacterias pueden actuar como oportunistas cuando las condiciones ambientales le sean favorables, no obstante, la mejor forma de prevención es establecer reglas de higiene adecuadas, garantizar un ambiente adecuado y buena alimentación.

Se pudo evidenciar la presencia del género *Klebsiella*, 1%, trabajos como de Leal *et al.* (2009) detallan a dicho género como proveniente de peces marinos aunque sin definir de que órgano fue aislado, lo cual confirmaría que hay una relación entre la presencia de dicha especie *Klebsiella pneumoniae* en la microbiota bacteriana de los peces marinos silvestres o de cultivos.

La información en relación a los parámetros de cultivos mostrados en el Anexo 1 se consideran como dato importante el sistema de flujo de agua en el que se reporta que tanto en el primero como en el tercer muestreo los organismos se encontraban en un sistema de recirculación (RAS), mientras que en el segundo muestreo los organismos se encontraron en estanques con flujo abierto. Según Hernández *et al.* (2009) una de las estrategias de manejo para incrementar la

eficiencia de un cultivo, es el empleo de sistemas de recirculación de agua, estos sistemas no solo son importantes debido a su eficiencia en la utilización del agua, sino además, existe un mayor control del medio ambiente haciendo posible manipular la temperatura, el oxígeno disuelto, el fotoperiodo y la claridad del agua; así también, FAO (2006), expresa que para lograr la sustentabilidad es necesario intensificar los cultivos valiéndose de tecnología como sistemas de recirculación de agua (SRA) y tratamiento de la misma, optimizando un recurso tan valioso. Por tal motivo, se puede deducir que los resultados obtenidos y presentados en la gráfica 5 y 6 donde el segundo muestreo se encuentra con mayor número de microbiota aislada en referencia con los otros dos muestreos, podría relacionarse con el tipo de sistema de flujo de agua, lo que explicaría la alta cantidad de cultivos bacterianos identificadas como los géneros *Aeromonas*, *Klebsiella* y *Enterobacter* que únicamente se aislaron en el segundo muestreo. Por lo tanto, cabe la posibilidad de una relación entre el flujo abierto y el aumento de bacterias; así como de encontrarse con bacterias patógenas.

V. CONCLUSIONES

- Se aislaron 159 cultivos bacterianos de piel, hígado, riñón, bazo e intestino de juveniles de *Paralichthys adspersus*, cultivados en estanque.
- Se identificaron por método convencional los géneros *Vibrio*, *Pseudomonas* y *Staphylococcus* con 101, 12 y 28 cultivos respectivamente.
- Se determinaron las especies de *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *Pseudomonas cepacea*, *P. alcaligenes*, *Aeromonas hydrophila*, *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter sakazakii* mediante Sistema API ®.
- El género *Vibrio* predominó dentro de los cultivos bacterianos aislados con un 70 % del total de cepas en los tres muestreos.

VI. RECOMENDACIONES

- Investigar sobre los aspectos benéficos de *Vibrio*, *Aeromonas* y *Pseudomonas* aisladas de *P. adspersus*, como potenciales probióticos y/o simbioses actuando como agentes de biocontrol en organismos de cultivos y así disminuir el uso de antibióticos y reducir las descargas de efluentes tóxicos al medio ambiente.
- Investigar los aspectos benéficos y/o perjudiciales de las bacterias Gram positivas aisladas de *P. adspersus*.
- Complementar los estudios realizados con análisis moleculares para caracterizar la microbiota de *P. adspersus*, que permita brindar una identificación definitiva.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Al-Harbi A. & N. Uddin. 2005. Development of draft protocols of standard reference methods for antimicrobial agent susceptibility testing of bacteria associated with fish diseases. *Aquaculture*. 196, 211-243.
- Álvarez, J & C. Agurto. 2000. Bacterioflora Gram negativa aerobia de tilapias silvestres y cultivadas en la región Central de Venezuela durante el período 1999 – 2000. INIA Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias Instituto de Investigaciones Veterinarias Apdo. 70. Maracay 2101. Venezuela.
- Angeles B. & J. Mendo. 2005. Crecimiento, fecundidad y diferenciación sexual del lenguado *Paralichthys adspersus* (Steindachner) de la costa central del Perú. *Ecología Aplicada*, 4(1,2) pp. 105-112.
- Austin B. 2006. The bacterial microflora of fish, revised. *Sci. World J.*, 6 (2006), pp. 931-945.
- Ben-Haim Y., F. Thompson, C. Thompson, M. Cnockaert, B. Hoste, J. Swings E. & D. Rosenberg. 2003. *Vibrio coralliilyticus* sp. nov., a temperature dependent pathogen of the coral *Pocillopora damicornis* *International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology*. 53, 309-315.
- Burr, G. & D. Gatlin. 2005. Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of prebiotics and probiotics in finfish aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society* 36, 425- 436p.
- Cañavate, J. 2005. Opciones del lenguado senegalés *Solea senegalensis* Kaup, 1858 para diversificar la acuicultura marina. *Boletín Instituto Español de Oceanografía* 21 (1-4). 2005: 147-154p. España.
- Carrera L., N. Cota & M. Montes. 2013. Compendio metodológico para la reproducción del "Lenguado" *Paralichthys adspersus* en cautiverio. Instituto Nacional del Mar del Perú.

- Carvalho, E., A. Belém-Costa, & J. Porto. 2015. Identificação bioquímica de bactérias patogênicas isoladas de peixes ornamentais no estado do Amazonas. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.*, Salvador, 16 (1):170-178
- Castro-Escarpulli, G., M. Aguilera-Arreola, C. Hernández-Rodríguez, R. Arteaga-Garibay, A. Carmona- Martínez, A. Pérez- Valdespino, S. Giono- Cerezo, M. Figueras-Salvat & G. Aparicio-Ozores. 2003. La identificación genética de *Aeromonas*, una realidad y una necesidad para la microbiología diagnóstica. *Bioquímica*. Vol. 28, núm. 4, 2003, pp. 11-18.
- Castro N. 2011. *Edwardsiella tarda*: patógeno emergente en el cultivo del rodaballo. Tesis para optar el grado de Doctor. Universidad Santiago de Compostela de Galicia-España.
- Catcoparco, C., A. Silva, E. Dupré. 2012. Cryopreservation of flounder *Paralichthys adspersus* spermatozoa. *Catcoparco*. Vol 40(2).
- Centeno L, Silva-Acuña A, Silva-Acuña R, Pérez J. 2004. Fauna ectoparasitaria asociada a *Colossoma macropomun* y al híbrido de *C. macropomum* x *Piaractus brachypomas*, cultivados en el estado Delta Amacuro, Venezuela. *Biagro* 16: 121-126.
- Cerdá I. 2015. Identificación y caracterización de *Aeromonas spp.* aisladas de peces enfermos. Tesis para optar el grado de Mater en Microbiología. Universidad Complutense de Madrid- España.
- Confederación Hidrográfica del Ebro.2005. Protocolos de muestreo y análisis para ictiofauna in Metodología para el establecimiento el Estado Ecológico según la Directiva Marco del Agua. España. 51 pp
- Dirección General de Pesca y Acuicultura (DIGEPESCA). 2007. Riesgo y Enfermedades de los peces.
- Eiler A., C. Gonzalez-Rey, S. Allen & S. Bertilsson. 2007. Growth response of *Vibrio cholerae* and other *Vibrio spp.* to cyanobacterial dissolved organic matter and temperature in brackish water. *Microbiology Ecology* 60(3): 411-418

- Faune C. 2003. Principales causas bacterianas de mortalidad en los primeros estadios de desarrollo del abalón rojo (*Haliotis rufescens*). Memoria de Título presentada como parte de los requisitos para optar el Título de Médico Veterinario. Universidad Austral de Chile facultad de Ciencias Veterinarias. Antofagasta – Chile.
- Gil A., C. Lanata, H. Miranda, A. Prada, C. Seas, E. Hall, R. Meza, C. Barreno, D. Maúrtua & G. Balakrish. 2007. Gravedad de la Gastroenteritis causada por *Vibrio parahaemolyticus* del grupo pandémico en el Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 24(4): 350-55.
- Goberna J. 2004. La Enfermedad a lo largo de la historia: Un punto de mira entre la biología y la simbología. *Index de Enfermería*, 13(47), 49-53. Recuperado en 04 de diciembre de 2019, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1132-12962004000300011&lng=es&tlng=es.
- González M., Torres T., Chiroles S., Valdés M. & I Domínguez. 2004. *Aeromonas* sp.: patógenos emergentes a considerar en aguas. *Revista electrónica de la Agencia de Medio Ambiente*. Año 4, No. 6, ISSN: 1683-8904.
- González M., Torres T., Chiroles S. & M. Manafi. 2009. Medios de cultivo fluorogénicos y cromogénicos y su evaluación en aguas de consumo y costeras. *Higiene y Sanidad Ambiental*, 9: 422-430.
- Hernández C., G. Aguirre & D. López. 2009. Sistemas de producción de acuicultura con recirculación de agua para la región norte, noreste y noroeste de México. Quinta Época. Año XIII. Volumen 25. Julio-diciembre del 2009.
- Holt, J., Krieg N. Sneath, P., Staley, J. & S. Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th edition. Williams & Wilkins (Eds) .Baltimore, Md, USA.
- Kong, I., M. Clarke & R. Escribano. 1995. Alimentación de *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867) en la zona norte de Chile (Osteichthyes: Paralichthyidae). *Rev. Biol. Mar.*, Valparaíso, 30(1): 29-44.

- Labella A., M. Gennari, V. Ghidini, I. Trento, A. Manfrin, J. Borrego y M. Lleo. 2013. High incidence of antibiotic multi-resistant bacteria in coastal areas dedicated to fish farming. *Marine Pollution Bulletin*. Volumen 70 (1-2): 197-203.
- León, J., L. Liza, I. Soto, M. Torres & A Orosco. 2010. Bacterias marinas productoras de compuestos antibacterianos aisladas a partir de invertebrados intermareales. *Rev. Perú de medicina experimental y salud pública*. Vol.27, n.2 pp. 215-221.
- Leal Y., Reyes M., Álvarez J., Obregón J., & X. Viña. 2009. Enteropatogenicidad de bacterias aisladas de peces, del agua y plancton de su entorno en Venezuela. *Rev. Cient. (Maracaibo)*. 19(5): 446-454.
- Long, R. & F. Azam. 2001. Antagonistic Interactions among Marine Pelagic Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(11), 4975–4983.
- Martin-Carnahan A. & S. Joseph. 2004. *Family I. Aeromonadaceae*. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Second Edition. Volumen 2.
- Martínez-Díaz, C. & B. Anguas-Vélez. 2002. Incidence of *Vibrio* during dermal and systemic infections of the spotted sand bass (*Paralabrax maculatofasciatus* Steindachner: 1868) in captivity. *Ciencias Marinas* 28(4): 347–356.
- Ministerio de Producción (PRODUCE). 2015. Anuario Estadístico Pesca y Acuicultura.
- Miranda C. & R. Rojas. 1996. Vibriosis en el lenguado *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867) en cautiverio. *Revista de biología marina* 31 (1):1-9
- Morales G., L. Blanco, M. Arias & C. Chaves. 2004. Evaluación de la calidad bacteriológica de tilapia fresca (*Oreochromis niloticus*) proveniente de la Zona Norte de Costa Rica. *ALAN*. vol.54, n.4, pp. 433-437. ISSN 0004-0622.
- O'Hara A., F. Shanahan. 2006. The gut flora as forgotten organ. *EMBO Rep.* (7): 688-693.

- Organización para la Agricultura y la Alimentación de las Naciones Unidas (FAO). 2006. Fisheries Technical Papers T500. Roma, Italia.
- Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). 2008. Manual de pruebas de diagnóstico para los animales acuáticos. 5ta Edición.
- Organización para la Agricultura y la Alimentación de las Naciones Unidas (FAO). 2009. Transporte de peces vivos. Roma, Italia.
- Organización para la Agricultura y la Alimentación de las Naciones Unidas (FAO). 2011. Manual básico de sanidad piscícola. Asunción. Paraguay
- Organización para la Agricultura y la Alimentación de las Naciones Unidas (FAO). 2014. Fishery and Aquaculture Statistics. Fisheries & Aquaculture Report, 35-55.
- Piaget N. 2010. Determinación del nivel óptimo de proteína dietaria en juveniles del lenguado, *Paralichthys adspersus* (Pisces, Pleuronectiformes: Paralichthyidae). Tesis de Magíster en Ciencias, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Católica del Norte, Coquimbo, 101 pp.
- Ringo E., M. Kristiansen, Y. Bakken, I. Salinas, R. Myklebust, R. Olsen, T. Mayh. 2010. Lactic acid bacteria vs. Pathogens in the gastrointestinal tract of fish: a review Aquac Res., (41): 451-467 pp.
- Rowe-Magnus D., Z Mohamed & D. Mazel. 2006. The adaptive genetic arsenal of pathogenic *Vibrio* species: the role of integrons. In: Fabiano L., A. Brian & J. Swings (eds). The biology of vibrios, pp. 95-111. ASM Press, Washington.
- Rubio-Godoy, Miguel. 2010. Inmunología de los peces óseos. Revisión. *Rev Mex Cienc Pecu.* 1: 47- 57
- Ruíz, C. 2011. Identificación de bacterias del género *Vibrio*, aislados del tracto aislados del tracto digestivo del lenguado *Etropus ectenes*. Unidad de Investigaciones en Acuicultura, Instituto del Mar del Perú Apartado 22, Chuchito, Callao.

- Silva, A., & Oliva, M. 2010. Revisión sobre aspectos biológicos y de cultivo de lenguado chileno (*Paralichthys adspersus*). *Latin American Journal Of Aquatic Research*, 38(3): 377-386.
- Souter, R. 2000. Enfoque veterinario de la cría del rodaballo. En Brown (Ed), *Acuicultura para veterinarios* (pp.348-350). Zaragoza, España. Editorial Acribia, S.A.
- Skrodenyte-Arbaciauskiene V., Sruoga A., Butkauskas D. & K. Skrupskelis. 2008. Phylogenetic analysis of intestinal bacteria of freshwater salmon *Salmo salar* and sea trout *Salmo trutta trutta* and diet. *Fisheries Science*. 74, 1307-1314.
- Soriano-Vargas E., Castro-Escarpulli G., Aguilera-Arreola G., Vega-Castillo F. C. Salgado-Miranda (2010) Aislamiento e identificación de *Aeromonas bestiarum* a partir de carpa común de cultivo (*Cyprinus carpio* L.) procedentes de Santa María Chapa de Mota, Estado de México. *Vet. Méx.*, 41 (2).
- Stabili L. & R. Cavallo. 2004. Biodiversity of culturable heterotrophic bacteria in the Southern Adriatic Sea Italian coastal waters. *Scient Mar* 68: 31-41.
- Stanchi, O. 2007. *Microbiología Veterinaria*. Primera Edición. Editorial Intermédica. Buenos Aires – Argentina. P. 210 – 214.
- Tanno F. & H. Tanno. 2005. Enfermedades asintomáticas del hígado. ANUARIO FUNDACIÓN Dr. J. R. VILLAVICENCIO. 2005. Nº XIII. 053 - 057
- Torrela F. 1999. Survival strategies of bacteria in the natural environment and the search for new micro-organisms. *Rev. Advanced Biotechnology*. 115-119 pg.
- Urakawa H. & I. Rivera. 2006. The biology of vibrio. *Rev. Aquatic Enviroment*. 12: 175-189.
- Velasco E. & A. Yamasaki. 2002. Bacterias de interés veterinario. *Rev. Med Vet*. Vol. 19 (1): 1-11.

- Verschuere, L., G. Rombaut, P. Sorgeloos & W. Verstraete. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 64, 655–671.
- Wittwer G. 2012. Caracterización bacteriana de intestino de salmón del Atlántico adulto. Tesis de Grado presentada como parte de los requisitos para optar al grado de Licenciado en Bioquímica y Título Profesional de Bioquímico.
- World Health Organization. 2002. Guidelines for drinking-water quality 2da Edition Addendum Microbiological agents in drinking wáter. Printed in Malta.

ANEXOS

Anexo 1

TABLA 3. Condiciones del cultivo en estanque de juveniles de *P. adspersus* (Huarmey, Perú), durante los tres muestreos

| | 1° MUESTREO (20/04/2014) | 2do MUESTREO (10/06/2014) | 3er MUESTREO (26/08/2014) |
|---|-----------------------------|--|------------------------------|
| Temperatura (C°) | 20,4 | 16,4 | 16,7 |
| Oxígeno (mg/l) | 4,87 | 4,95 | 5,01 |
| pH | | | |
| S% (ppm) | 35% | 35% | 35% |
| Nitritos | | menor 0.01ppm | |
| Amonio | | menor 0.1ppm | |
| Sistema de cultivo (Abierto/cerrado) | RAS 12 | Flujo Abierto AC8 | RAS 12 |
| % Recambio de agua | 100%/h | 40%/h | 40%/h |
| Volumen de estanque | 15m ³ | 40m ³ | 40m ³ |
| Biomasa | 67 kg | 274kg | 700Kg |
| Tipo de alimento | | pellett extruido Alicorp peces marinos | |
| % Proteínas | 45% | 45% | 45% |
| Frecuencia de alimentación | 3 | 2 | 2 |
| Horarios de alimentación | 9am 1pm 5pm | 9am 5pm | 9am 5pm |
| Tiempo de vida | PA.01/09/13 | PA.26/01/13 | 2012-1 |
| Tratamiento preventivo (Formol, otros) | formol | formol | formol |
| Frecuencia de limpieza del tanque | 1v c/10 días | 1v/semana | 1v/semana |
| Información de oleajes, mareas (cercas a la fechas) | no | si | si |
| Promedio Global (g) | | 67,68 | |
| Promedio Global (cm) | | 17,68 | |
| Promedio Global (biomasa) | | 676,81 | |

Anexo 2

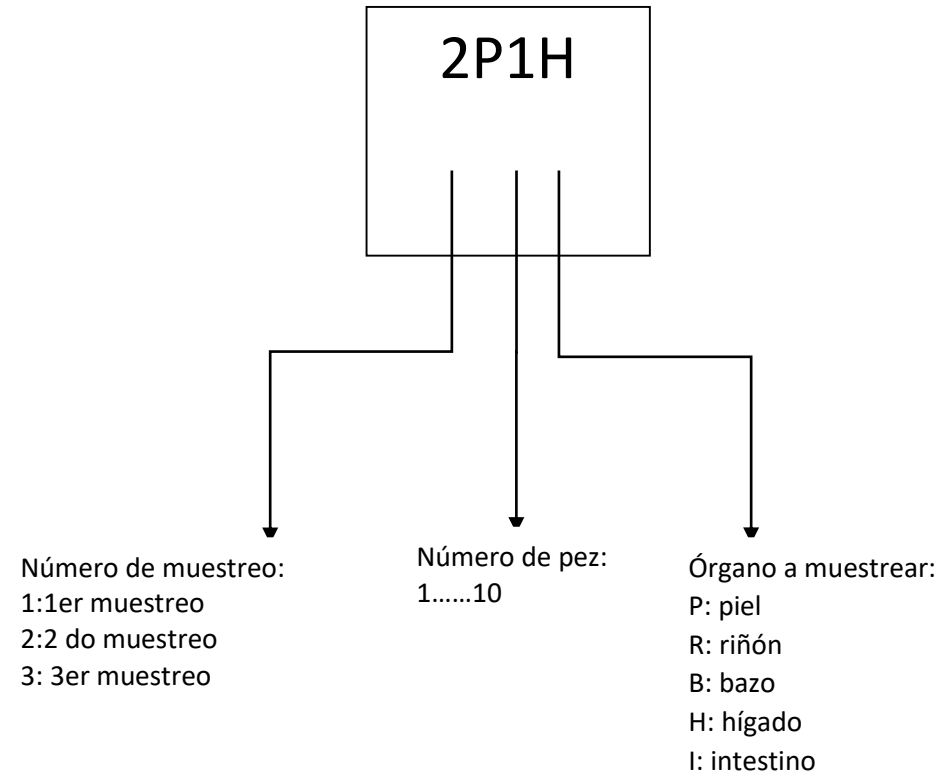


Figura 9. Codificación utilizada para aislamiento bacteriano proveniente de cada juvenil de *P. adspersus*.

Anexo 3

TABLA 4. Signos clínicos de los ejemplares juveniles de *P. adspersus* analizados.

| SIGNOS CLINICOS | MUESTRA | | |
|--|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| | PRIMERA | SEGUNDA | TERCERA |
| Exoftalmia | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> |
| Erizamiento o perdida de escamas | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> |
| Congestión y ulceración | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> |
| Coloración anormal | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> |
| Erosión de los bordes de los opérculos | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> |
| Hinchamiento y necrosis de aletas | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> |
| Observaciones | Sin presencia de parásitos | | |



Presencia:



Ausencia:

Anexo 4

TABLA 5. Peso (g) y Talla (cm) promedio de juveniles de *P. adspersus* “lenguado” durante los tres muestreos.

| Código | Primer muestreo | | Código | Segundo estreo | | Código | Tercer muestreo | |
|--------------------------|-----------------|------------|-------------------------|----------------|------------|-----------------------------|-----------------|------------|
| | Peso (g) | Talla (cm) | | Peso (g) | Talla (cm) | | Peso (g) | Talla (cm) |
| P1 | 75 | 17 | 2P1 | 82 | 19 | 3P1 | 71,12 | 16 |
| P2 | 73 | 19 | 2P2 | 89 | 20 | 3P2 | 75,33 | 19 |
| P3 | 80 | 19 | 2P3 | 80 | 19 | 3P3 | 63,9 | 18 |
| P4 | 68 | 17 | 2P4 | 71 | 18,5 | 3P4 | 78,73 | 17 |
| P5 | 75 | 17 | 2P5 | 69 | 17 | 3P5 | 62,98 | 16,5 |
| P6 | 76 | 18 | 2P6 | 87 | 19 | 3P6 | 85,38 | 19 |
| P7 | 81 | 18 | 2P7 | 62 | 18 | 3P7 | 71,23 | 17 |
| P8 | 69 | 16 | 2P8 | 63 | 17,5 | 3P8 | 79,3 | 18 |
| P9 | 72 | 17 | 2P9 | 72 | 19,5 | 3P9 | 78,45 | 18 |
| P10 | 84 | 18 | 2P10 | 82 | 18 | 3P10 | 74,01 | 17 |
| Promedio | 75,3 | 17,6 | Promedio | 75,7 | 18,55 | Promedio | 74,043 | 17,55 |
| Valor máximo (gr) | | 89 | Valor mínimo(gr) | | 62 | Promedio global (gr) | 75,01 ± 7,25 | |
| Valor máximo (cm) | | 20 | Valor mínimo(cm) | | 16 | Promedio global (cm) | 17,90 ± 1,04 | |

Anexo 5



Figura 10. Proceso de aclimatación de los ejemplares a) Cooler con ejemplares para transporte b) Traspaso de ejemplares c) Aclimatación de juveniles de *P. adspersus* en el laboratorio

Anexo 6



Figura 11. a) Medición b) Pesaje y c) Disección de los ejemplares de juveniles de *P. adspersus*.

Anexo 7

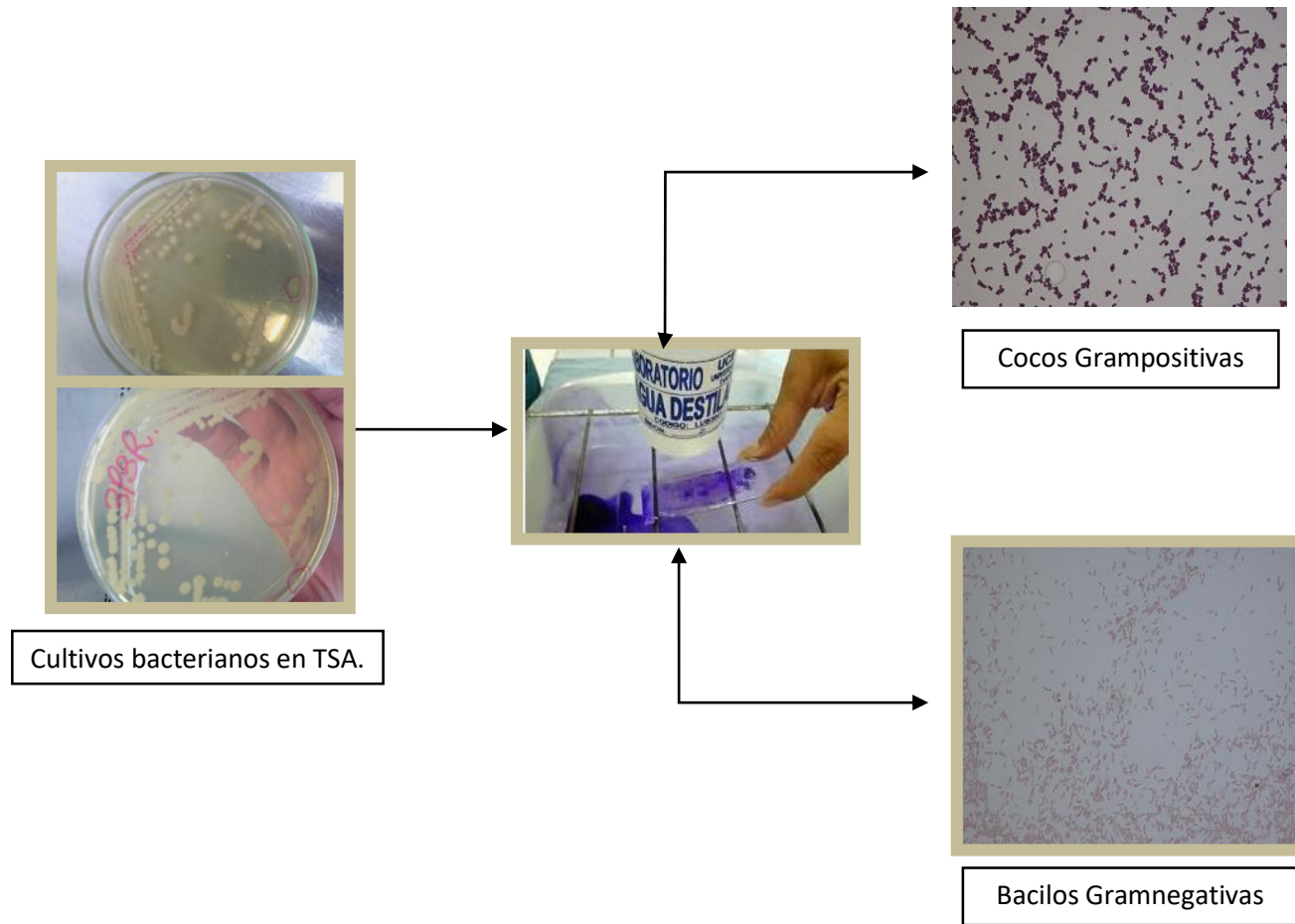


Figura 12. Tinción Gram de los cultivos bacterianos en TSA

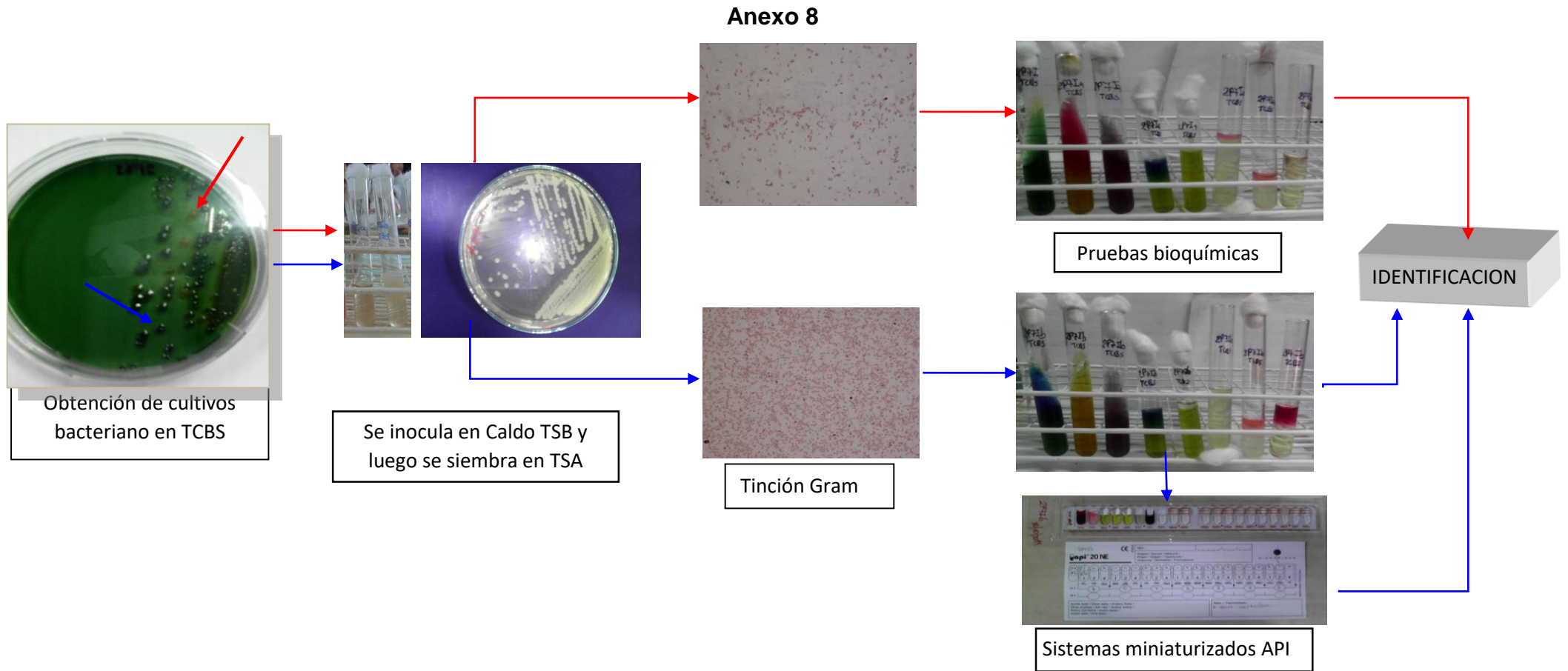


Figura 13. Caracterización e identificación de los cultivos bacterianos aislados en el medio TCBS.

Anexo 9

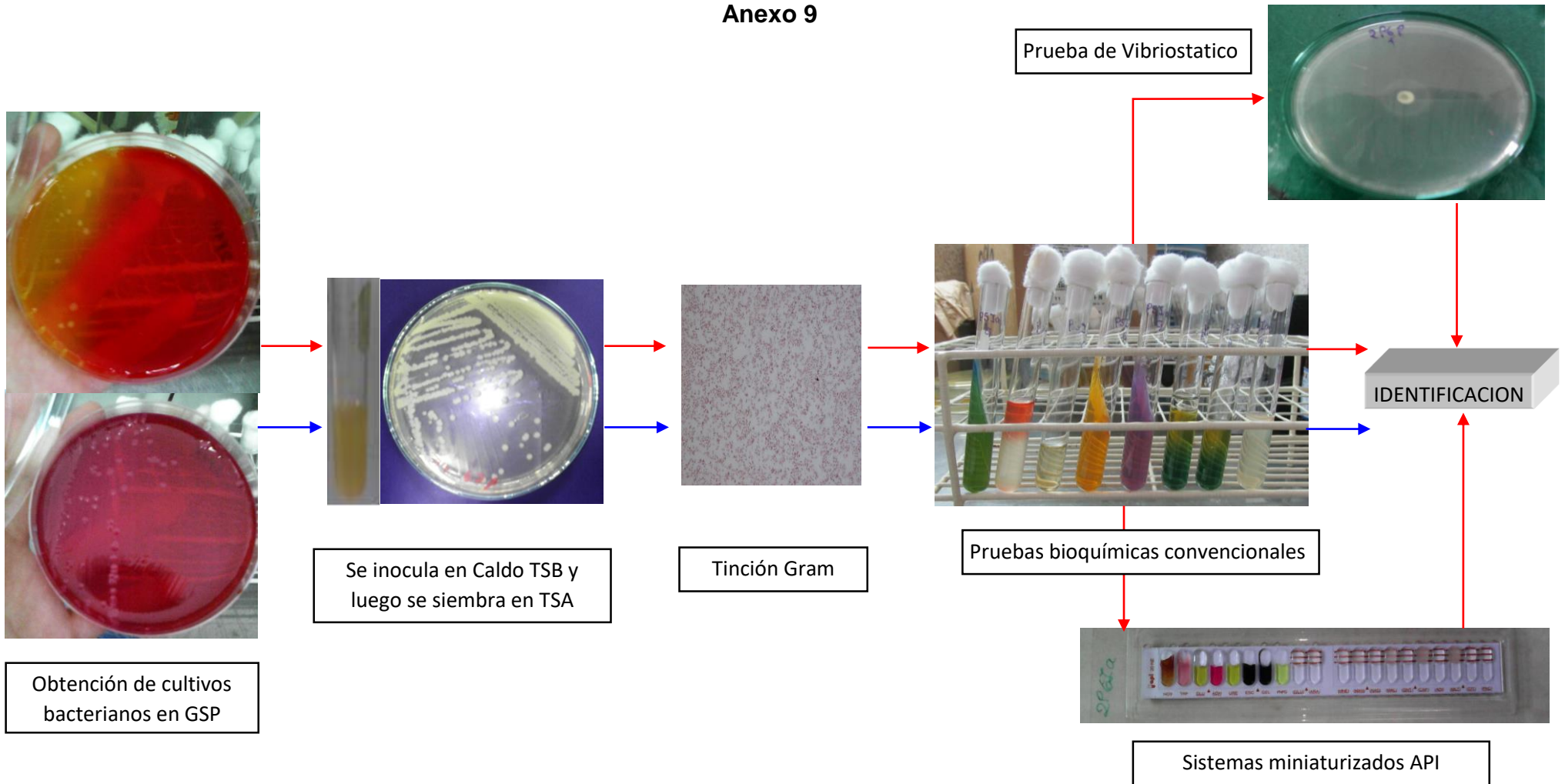


Figura 14 Caracterización e identificación de cultivos bacterianos aislados en el medio GSP.

Anexo 10

Tabla N° 6. Caracterización bioquímica de cultivos bacterianos aislados en medio TCBS.

| Cultivo bacteriano | Forma | Tinción Gram | Oxidasa | Sacarosa | Oxi/Fer | Lactosa | Glucosa | Gas en TSI | H ₂ S en TSI | Lisina | RM | VP | Indol | Movimiento | Citrato de Simon's | NaCl | | | | | | Especie |
|--------------------|----------|--------------|---------|----------|---------|---------|---------|------------|-------------------------|--------|-----|-----|-------|------------|--------------------|------|-----|-----|-----|-----|-----|--------------------------------------|
| | | | | | | | | | | | | | | | | 0% | 1% | 3% | 6% | 8% | 10% | |
| P2H | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (-) | (-) | (+) | (-) | * <i>Vibrio. Alginolyticus (API)</i> |
| P1Ib | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | * <i>Vibrio. Alginolyticus (API)</i> |
| P1Ic | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | * <i>Vibrio. Alginolyticus (API)</i> |
| P2Ia | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (±) | * <i>Vibrio. Alginolyticus (API)</i> |
| P2Ib | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (±) | * <i>Vibrio. Alginolyticus (API)</i> |
| P3Ia | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (-) | * <i>Vibrio alginolyticus (API)</i> |
| P3Ib | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | <i>Vibrio sp.</i> |
| P4Ha | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | * <i>Vibrio alginolyticus (API)</i> |
| P4Hb | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (±) | * <i>Vibrio alginolyticus (API)</i> |
| P4Ia | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | * <i>Vibrio alginolyticus (API)</i> |
| P4Ib | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | * <i>Vibrio alginolyticus (API)</i> |
| P5Ba | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | * <i>Vibrio alginolyticus (API)</i> |
| P5Bb | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | * <i>Vibrio alginolyticus (API)</i> |
| P5Ib | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | <i>Vibrio sp.</i> |
| P7Ib | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | * <i>Vibrio alginolyticus (API)</i> |
| P7Ia | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | * <i>Vibrio alginolyticus (API)</i> |

Continuación del anterior

| Cultivo bacteriano | Forma | Tinción Gram | Oxidasa | Sacarosa | Oxi/Fer | Lactosa | Glucosa | Gas en TSI | H ₂ S en TSI | Lisina | RM | VP | Indol | Movimiento | Citrato de Simon's | NaCl | | | | | | Especie |
|--------------------|----------|--------------|---------|----------|---------|---------|---------|------------|-------------------------|--------|-----|-----|-------|------------|--------------------|------|-----|-----|-----|-----|-----|---|
| | | | | | | | | | | | | | | | | 0% | 1% | 3% | 6% | 8% | 10% | |
| P7Ha | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | <i>Vibrio parahaemolyticus</i> (W. Silva) |
| P7Hb | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | * <i>Vibrio alginolyticus</i> (API) |
| P8Ia | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | * <i>Vibrio alginolyticus</i> (API) |
| P8Ib | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | * <i>Vibrio alginolyticus</i> (API) |
| P9B | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | * <i>Vibrio alginolyticus</i> (API) |
| P9Ha | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | * <i>Vibrio alginolyticus</i> (API) |
| P9Hb | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | <i>Vibrio</i> sp. (<i>vibrio vulnificus</i> Sulca) |
| P9Pa | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | * <i>Vibrio alginolyticus</i> (API) |
| P9Pb | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | * <i>Vibrio alginolyticus</i> (API) |
| P10I | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | * <i>Vibrio alginolyticus</i> (API) |
| 2P1I | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (±) | <i>Vibrio parahaemolyticus</i> (API) |
| 2P1R | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | * <i>Vibrio alginolyticus</i> (API) |
| 2P1B | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | * <i>Vibrio parahaemolyticus</i> (API) |
| 2P2P | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (±) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | <i>Vibrio alginolyticus</i> (C. Ruiz) |
| 2P2Ia | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | <i>Vibrio alginolyticus</i> (API) |
| 2P3Pa | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (±) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | * <i>Vibrio alginolyticus</i> (API) |
| 2P3Pb | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | <i>Vibrio alginolyticus</i> (M. Alcina) |
| 2P4I | Bastones | (-) | (-) | (+) | OF | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | <i>Vibrio</i> sp. |
| 2P4Pa | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (±) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | <i>Vibrio parahaemolyticus</i> (W. Silva) |
| 2P4Pb | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (±) | <i>Vibrio alginolyticus</i> (R. Colwell) |

Continuación del anterior

| Cultivo bacteriano | Forma | Tinción Gram | Oxidasa | Sacarosa | Oxi/Fer | Lactosa | Glucosa | Gas en TSI | H ₂ S en TSI | Lisina | RM | VP | Indol | Movimiento | Citrato de Simon's | NaCl | | | | | | Especie | |
|--------------------|----------|--------------|---------|----------|---------|---------|---------|------------|-------------------------|--------|-----|-----|-------|------------|--------------------|------|-----|-----|-----|-----|-----|---------|--|
| | | | | | | | | | | | | | | | | 0% | 1% | 3% | 6% | 8% | 10% | | |
| 2P5P | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | <i>Vibrio parahaemolyticus (Sulca)</i> |
| 2P5I | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (-) | <i>Vibrio sp.</i> |
| 2P5Ra | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | <i>Vibrio alginolyticus (API)</i> |
| 2P5Rb | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | <i>Vibrio alginolyticus (API)</i> |
| 2P6B | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | * <i>Vibrio alginolyticus (API)</i> |
| 2P6R | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | * <i>Vibrio alginolyticus (API)</i> |
| 2P6Pa | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (±) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | * <i>Vibrio parahaemolyticus (API)</i> |
| 2P6Pb | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (±) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (±) | * <i>Vibrio alginolyticus (API)</i> |
| 2P7P | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | <i>Vibrio parahaemolyticus (Sulca)</i> |
| 2P7R | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (±) | * <i>Vibrio alginolyticus (API)</i> |
| 2P7H | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (±) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | <i>Vibrio parahaemolyticus (Sulca)</i> |
| 2P7Ia | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | <i>Vibrio parahaemolyticus (Sulca)</i> |
| 2P7Ib | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | <i>Vibrio alginolyticus (API)</i> |
| 2P8Pa | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (±) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (±) | <i>Vibrio sp.</i> |
| 2P8Pb | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (±) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (±) | * <i>Vibrio alginolyticus (API)</i> |
| 2P8Ra | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (±) | <i>Vibrio parahaemolyticus (Sulca)</i> |
| 2P8Rb | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (±) | <i>Vibrio alginolyticus (Sulca)</i> |
| 2P8I | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (-) | <i>Vibrio sp.</i> |
| 2P9Pa | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | <i>Vibrio parahaemolyticus (Sulca)</i> |
| 2P9Pb | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (±) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (±) | <i>Vibrio sp.</i> |

Continuación del anterior

| Cultivo bacteriano | Forma | Tinción Gram | Oxidasa | Sacarosa | Oxi/Fer | Lactosa | Glucosa | Gas en TSI | H ₂ S en TSI | Lisina | RM | VP | Indol | Movimiento | Citrato de Simons | NaCl | | | | | | Especie |
|--------------------|----------|--------------|---------|----------|---------|---------|---------|------------|-------------------------|--------|-----|-----|-------|------------|-------------------|------|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| | | | | | | | | | | | | | | | | 0% | 1% | 3% | 6% | 8% | 10% | |
| 2P91a | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | <i>Vibrio alginolyticus (API)</i> |
| 2P91b | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | <i>Vibrio sp.</i> |
| 2P10B | Bastones | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (-) | <i>Vibrio sp.</i> |
| 2P10Pa | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | * <i>Vibrio parahaemolyticus (API)</i> |
| 2P10Pb | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | <i>Vibrio sp.</i> |
| 2P10Ha | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (±) | (±) | (±) | <i>Vibrio sp.</i> |
| 2P10Hb | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (-) | <i>Vibrio sp.</i> |
| 2P10Ia | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | * <i>Vibrio alginolyticus (API)</i> |
| 2P10Ib | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | <i>Vibrio alginolyticus (API)</i> |
| 3P2R | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (-) | <i>Vibrio alginolyticus (C. Ruiz)</i> |
| 3P2I | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (-) | <i>Vibrio sp.</i> |
| 3P3B | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (-) | <i>Vibrio sp.</i> |
| 3P3P | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | <i>Vibrio alginolyticus (API)</i> |
| 3P4P | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | * <i>Vibrio alginolyticus (API)</i> |
| 3P5I | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | <i>Vibrio sp.</i> |
| 3P7I | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | <i>Vibrio alginolyticus (API)</i> |
| 3P9I | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | * <i>Vibrio alginolyticus (API)</i> |
| 3P10P | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | * <i>Vibrio alginolyticus (API)</i> |

Nota: (*) similar a algún cultivo bacteriano identificado con sistema API.

Anexo 11

Tabla N° 7 Caracterización bioquímica de cultivos bacterianos aislados en medio GSP con viraje.

| Cultivo bacteriano | Forma | Tinción Gram | Oxidasa | Secarosa | Oxi/Fer | Lactosa | Glucosa | Gas en TSI | H ₂ S en TSI | Lisina | RM | VP | Indol | Movimiento | Citrato de Simon's | Hemolisis | 6.5% NaCl | Vibriostático 0/129 | Especie |
|--------------------|----------|--------------|---------|----------|---------|---------|---------|------------|-------------------------|--------|-----|-----|-------|------------|--------------------|-----------|-----------|---------------------|-----------------------------|
| P11 | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | β | (+) | S | *V. alginolyticus (API) |
| P21 | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | β | (+) | S | *V. alginolyticus (API) |
| P4Ha | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | β | (+) | S | *V. alginolyticus (API) |
| P4Hb | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | β | (+) | S | *V. alginolyticus (API) |
| P4I | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | β | (+) | S | *V. alginolyticus (API) |
| P5I | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | β | (+) | S | *V. alginolyticus (API) |
| P5Ia | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | β | (+) | S | *V. alginolyticus (API) |
| P7I | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | β | (+) | S | *V. alginolyticus (API) |
| P8I | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | β | (+) | S | *V. alginolyticus (API) |
| P9B | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | β | (+) | S | *V. alginolyticus (API) |
| P9H | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | β | (+) | S | *V. alginolyticus (API) |
| P9P | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | β | (+) | S | *V. alginolyticus (API) |
| P10I | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | β | (+) | S | *V. alginolyticus (API) |
| P10P | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | β | (+) | S | *V. alginolyticus (API) |
| 2P1I | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (-) | (+) | β | (+) | S | Vibrio sp. |
| 2P1R | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | β | (+) | S | V. alginolyticus (M.Alcina) |
| 2P1Ba | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (±) | β | (+) | S | *V. alginolyticus (API) |
| 2P1Bb | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | β | (+) | S | V. alginolyticus (M.Alcina) |
| 2P2Ia | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (-) | (-) | β | (+) | S | Vibrio sp. |
| 2P2Pa | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (+++) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | β | (-) | R | Aeromonas Hydrophila(API) |

Continuación de la tabla anterior

| Cultivo bacteriano | Forma | Tinción Gram | Oxidasa | Sacarosa | Oxi/Fer | Lactosa | Glucosa | Gas en TSI | H ₂ S en TSI | Lisina | RM | VP | Indol | Movimiento | Citrato de Simon's | Hemolisis | 6.5% NaCl | Vibriostático 0/129 | Especie |
|--------------------|----------|--------------|---------|----------|---------|---------|---------|------------|-------------------------|--------|-----|-----|-------|------------|--------------------|-----------|-----------|---------------------|------------------------------------|
| 2P5P | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | β | (+) | S | <i>Vibrio</i> sp. |
| 2P5B | Bastones | (-) | (-) | (+) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (-) | β | (+) | S | <i>Vibrio</i> sp. |
| 2P5R | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | β | (+) | S | * <i>V. alginolyticus</i> (API) |
| 2P6P | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | β | (+) | S | <i>Vibrio</i> sp. |
| 2P6Ia | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | β | (-) | R | <i>Aeromonas hydrophila</i> |
| 2P7H | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | β | (+) | S | * <i>V. parahemolyticus</i> (API) |
| 2P8P | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | β | (+) | S | <i>Vibrio</i> sp. |
| 2P8R | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (-) | β | (+) | S | <i>Vibrio</i> sp. |
| 2P9Pa | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | β | (+) | S | <i>V. alginolyticus</i> (M.Alcina) |
| 2P9Ia | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | β | (+) | S | * <i>V. alginolyticus</i> (API) |
| 2P9Ib | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | β | (+) | S | * <i>V. alginolyticus</i> (API) |
| 2P10Pa | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | β | (+) | S | * <i>V. alginolyticus</i> (API) |
| 2P10Pc | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | β | (+) | S | <i>V. alginolyticus</i> (M.Alcina) |
| 3P2I | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (-) | β | (+) | S | <i>Vibrio</i> sp. |
| 3P3P | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | k/n | (+) | (±) | (±) | (+) | (+) | β | (+) | S | * <i>V. alginolyticus</i> (API) |
| 3P4P | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (±) | (+) | (+) | β | (+) | S | * <i>V. alginolyticus</i> (API) |
| 3P7I | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (±) | (+) | (+) | β | (+) | S | * <i>V. alginolyticus</i> (API) |
| 3P9H | Bastones | (-) | (+) | (-) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (-) | (-) | β | (+) | S | <i>Vibrio</i> sp. |
| 3P9I | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (±) | (±) | (+) | (+) | β | (+) | S | <i>V. alginolyticus</i> (API) |
| 3P10P | Bastones | (-) | (+) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (±) | (+) | (+) | β | (+) | S | * <i>V. alginolyticus</i> (API) |

Nota: (*) similar a algún cultivo bacteriano identificado con sistema API.

Anexo 12

Tabla N°8 Caracterización bioquímica de cultivos bacterianos aislados en medio GSP sin viraje.

| Cultivo bacteriano | Forma | Tinción Gram | Oxidasa | Oxi/Fer | Lactosa | Glucosa | Gas en TSI | H2S en TSI | Lisina | R.M | V.P | Indol | Movimiento | Citrato de Simon's | Hemolisis | Especie |
|--------------------|----------|--------------|---------|---------|---------|---------|------------|------------|--------|-----|-----|-------|------------|--------------------|-----------|--------------------------------------|
| P10R | Bastones | (-) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (±) | (-) | β | <i>Pseudomonas cepacia</i> (API) |
| 2P2Ib | Bastones | (-) | (+) | (±) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | SC | <i>Pseudomonas alcaligenes</i> (API) |
| 2P2R | Bastones | (-) | (+) | (-)O | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (-) | (-) | β | <i>Pseudomonas</i> sp. |
| 2P2Pb | Bastones | (-) | (-) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | γ | <i>Klebsiella pneumoniae</i> (API) |
| 2P3P | Bastones | (-) | (+) | (±) | (+) | (+) | (-) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | α | <i>Pseudomonas cepacia</i> (API) |
| 2P4I | Bastones | (-) | (+) | OF | (+) | (+) | (+++) | (-) | (-) | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | γ | <i>Enterobacter sakazakii</i> (API) |
| 2P4Pb | Bastones | (-) | (+) | OF | (-) | (-) | (-) | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (-) | (+) | β | <i>Pseudomonas</i> sp. |
| 2P5H | Bastones | (-) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (-) | β | <i>Pseudomonas</i> sp. |
| 2P5I | Bastones | (-) | (+) | OF | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (-) | β | <i>Pseudomonas</i> sp. |
| 2P6Ib | Bastones | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (-) | (+) | (-) | α | <i>Pseudomonas</i> sp. |
| 2P7I | Bastones | (-) | (+) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (-) | (+) | (-) | α | <i>Pseudomonas cepacia</i> (API) |
| 2P9Pb | Bastones | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | β | <i>Pseudomonas</i> sp. |
| 2P10Pb | Bastones | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (+) | (+) | β | <i>Pseudomonas</i> sp. |
| 3P2P | Bastones | (-) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (-) | β | <i>Pseudomonas</i> sp. |
| 3P2H | Bastones | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (±) | (-) | (-) | (-) | β | <i>Pseudomonas</i> sp. |
| 3P3I | Bastones | (-) | (+) | OF | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (+) | (±) | (-) | (+) | (-) | β | <i>Pseudomonas</i> sp. |
| 3P3B | Bastones | (-) | (+) | OF | (+) | (+) | (-) | (-) | (-) | (+) | (+) | (-) | (-) | (-) | β | <i>Pseudomonas</i> sp. |
| 3P3R | Bastones | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (-) | (-) | (+) | (+) | (+) | (-) | (+) | (-) | β | <i>Pseudomonas</i> sp. |

Anexo 13

Tabla N° 9 . Caracterización bioquímica de cultivos bacterianos aislados en medio TSA y AS.

| Cultivo bacteriano | Forma | Tinción Gram | Catalasa | Cuagulasa | Ox/Fer | Especie |
|--------------------|------------------|--------------|----------|-----------|--------|--------------------|
| P11a | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| p28b | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| P21b | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| P2Pb | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| P38b | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| P3I | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| P4Hb | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| P4Pa | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| P5Pb | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| P6Pa | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| P7Pa | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| P8R | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| P9B | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| P10R | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| 2P1Pb | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| 2P1B | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| 2P4B | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| 2P5P | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| 2P6Pa | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| 2P8P | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| 2P5R | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| 2P7B | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| 2P9Pa | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| 2P9R | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| 2P10Pb | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| 3P4P | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| 3P4H | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |
| 3P6H | Cocos en racimos | (+) | (+) | (-) | OF | Staphylococcus sp. |

Anexo 14

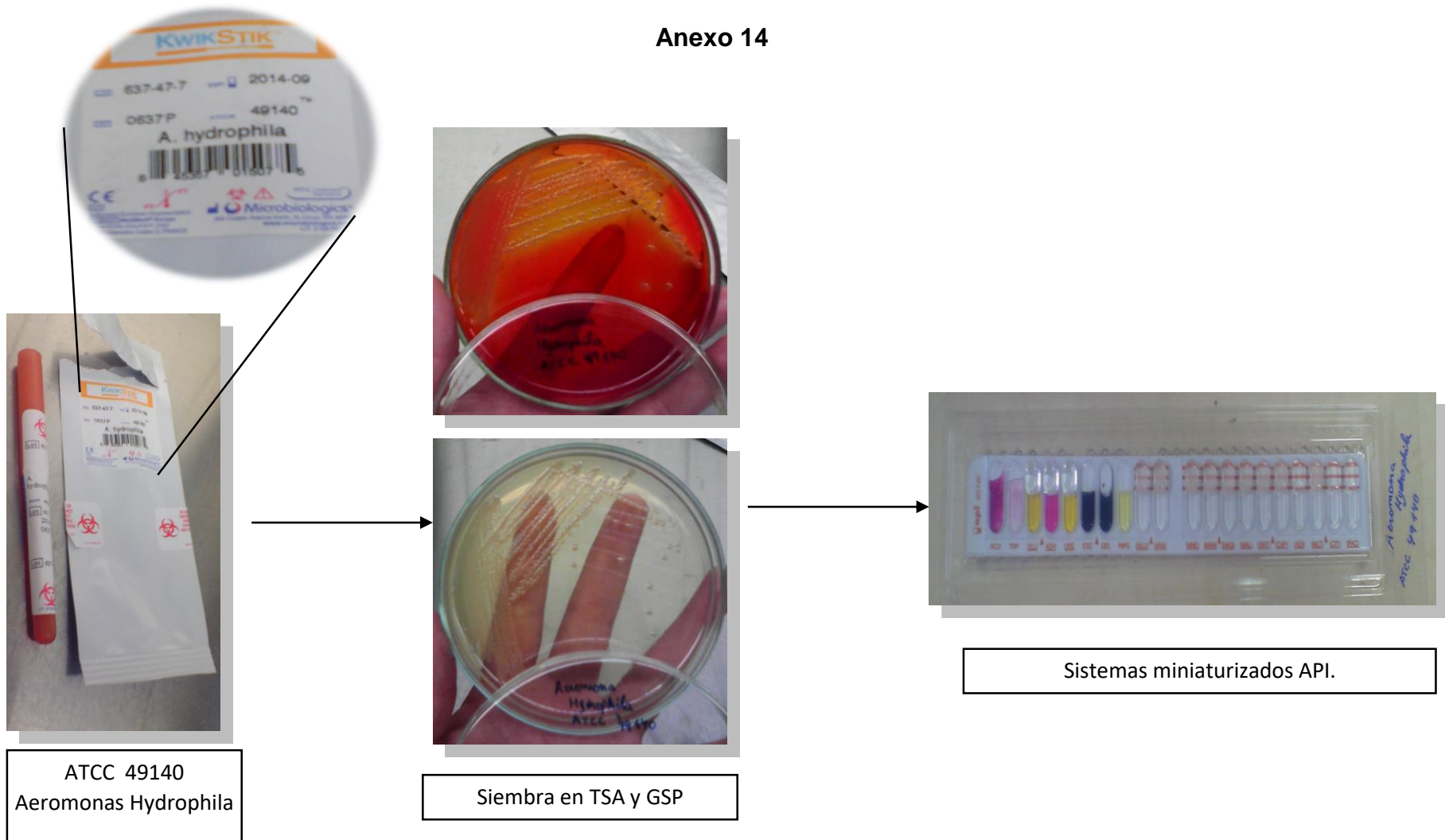


Figura 15. Flujo de trabajo del procedimiento realizado para la cepa patrón *Aeromonas hydrophila* ATCC 49140