

**UNIVERSIDAD NORBERT WIENER
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE
TECNOLOGÍA MÉDICA**

**“AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *Vibrio sp.* EN TRUCHAS
(*Oncorhynchus mykiss* y *Salmo trutta*) PROVENIENTES DE DOS
PISCIGRANJAS DE HUARAL, PERÚ 2020”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN
TECNOLOGÍA MÉDICA EN LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA
PATOLÓGICA.**

Presentado por:

Bachiller. Renato Xavier Badillo Purizaca
Bachiller. Carmen Rosa Díaz Díaz

Asesor de Tesis:

Dr. Juan Carlos Benites Azabache

LIMA – PERÚ

2021

**“AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *Vibrio sp.* EN TRUCHAS
(*Oncorhynchus mykiss* y *Salmo trutta*) PROVENIENTES DE DOS
PISCIGRANJAS DE HUARAL, PERÚ 2020”**

Autores:

Bachiller. Renato Xavier Badillo Purizaca

Bachiller. Carmen Rosa Díaz Díaz

Asesor de Tesis:

Dr. Juan Carlos Benites Azabache

Dedico este trabajo:

A Dios, por la vida, por nunca desampararnos en los momentos más difíciles. A nuestros padres por habernos forjado como las personas que somos en la actualidad; por habernos inculcado valores, los cuales nos permitieron alcanzar nuestros anhelos.

Agradezco a:

A Dios por permitirnos disfrutar en el trayecto de nuestra formación académica, a nuestro asesor Mg. Juan Carlos Benites Azabache, por ayudarnos en el desarrollo de la tesis, a nuestros padres por orientarnos a ser parte de esta carrera, a nuestros profesores por compartir sus conocimientos con nosotros.

ASESOR DE TESIS

Dr. Juan Carlos Benites Azabache

JURADOS

Dr. Javier Francisco Casimiro Urcos

Presidente

Mg. Víctor Raúl Huamán Cárdenas

Secretario

Mg. Haydee Ana Guadalupe Gomez

Vocal

INDICE

CAPÍTULO I:	¡Error! Marcador no definido.	12
1.1. Planteamiento del Problema	¡Error! Marcador no definido.	12
1.2. Formulación del Problema	¡Error! Marcador no definido.	4
1.3. Objetivo	¡Error! Marcador no definido.	4
1.3.1. General	¡Error! Marcador no definido.	4
1.3.2. Específico	¡Error! Marcador no definido.	4
1.4. Justificación	¡Error! Marcador no definido.	5
1.5. Delimitaciones	¡Error! Marcador no definido.	6
CAPÍTULO II:	¡Error! Marcador no definido.	18
2.1. Antecedentes	¡Error! Marcador no definido.	18
2.2. Base Teórica	¡Error! Marcador no definido.	23
2.3. Hipótesis	¡Error! Marcador no definido.	31
CAPÍTULO III:	¡Error! Marcador no definido.	32
3.1. Tipo de investigación	¡Error! Marcador no definido.	32
3.2. Ámbito de Investigación		32
3.3. Población y muestra	¡Error! Marcador no definido.	33
3.3.1. Población	¡Error! Marcador no definido.	33
3.3.2. Muestra	¡Error! Marcador no definido.	33
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	¡Error! Marcador no definido.	35
3.5. Plan de procesamiento y análisis de datos	¡Error! Marcador no definido.	38
3.6. Aspectos éticos	¡Error! Marcador no definido.	38
CAPÍTULO IV:	¡Error! Marcador no definido.	39
4.1 Resultados	¡Error! Marcador no definido.	39
4.2 Discusión	¡Error! Marcador no definido.	45
CAPÍTULO V:	¡Error! Marcador no definido.	49
5.1. Conclusión	¡Error! Marcador no definido.	49
5.2. Recomendaciones	¡Error! Marcador no definido.	50
6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	¡Error! Marcador no definido.	51
ANEXOS	¡Error! Marcador no definido.	55

ÍNDICE DE TABLAS

TABLAS	Pág.
Tabla 1 Distribución de aislamientos positivos obtenidos de truchas de dos piscigranjas de Huaral. N=24	40
Tabla 2 Frecuencia de aislamientos positivos de escamas de truchas provenientes de la piscigranja El Molino, Huaral. N=24.	41
Tabla 3 Frecuencia de aislamientos positivos de vísceras de truchas provenientes de la piscigranja El Molino, Huaral.	42
Tabla 4 Frecuencia de aislamientos positivos de escamas de truchas provenientes de la piscigranja El Angelito, Huaral. N=20.	42
Tabla 5 Frecuencia de aislamientos positivos de vísceras de truchas provenientes de la piscigranja El Angelito, Huaral.	43

INDICE DE GRÁFICOS

FIGURA	Pág.
Figura 1 Bacterias aisladas de escamas de truchas provenientes de la piscigranja El Molino, Huaral. N=24.	40
Figura 2 Distribución bacterias aisladas de vísceras de truchas provenientes de la piscigranja El Molino, Huaral.	41
Figura 3 Bacterias aisladas de escamas de truchas provenientes de la piscigranja El Angelito, Huaral. N=20.	42
Figura 4 Distribución bacterias aisladas de vísceras de truchas provenientes de la piscigranja El Angelito, Huaral.	44
Figura 5 <i>Aeromonas hydrophila/caviae</i> aislada de muestra de vísceras abiertas de truchas de la piscigranja El Angelito.	44

Resumen

Introducción: La seguridad microbiológica en la industria alimentaria está basada en la evaluación constante de sus productos. La piscicultura es una actividad en incremento que requiere que se evalúen potenciales patógenos humanos. El objetivo de este estudio fue determinar la presencia de *Vibrio* sp. En truchas (*Oncorhynchus mykiss* y *Salmo trutta*) provenientes de dos piscigranjas de Huaral, Lima 2020. **Materiales y Métodos:** Se diseñó un estudio observacional prospectivo en dos piscigranjas (El Molino y El Angelito) de Huaral, Lima. Se utilizó la guía para el manejo de truchas del Instituto del Mar de Perú (IMARPE), el muestreo se realizó siguiendo el método de Sierralta et al (2016) y el cultivo microbiológico se realizó con métodos bacteriológicos convencionales (identificación en Vitek 2 Compact) a partir de escamas y viseras de las truchas. **Resultados:** Se analizaron 96 muestras de cada lugar (192 en total). El cultivo de escamas y viseras de truchas en El Molino permitió identificar *Escherichia coli* en el 100% y 85.7%, respectivamente. En El Angelito se identificó 18 (80%) cepas de *E. coli* y 2 (20%) cepas de *Klebsiella pneumoniae* en escamas; y 17 (85%) de *E. coli*, y 2 (10%) de *K. pneumoniae* en viseras. Se identificó *Aeromonas hydrophila/caviae* en viseras y ningún cultivo fue positivo a *Vibrio* sp. **Conclusiones:** No se determinó la presencia de *Vibrio* sp. en truchas (*Oncorhynchus mykiss* y *Salmo trutta*) provenientes de dos piscigranjas de Huaral, Lima 2020.

Palabras claves: truchas, bacteria, *Vibrio*, piscigranja, microbiología alimentaria.

Abstract

Introduction: Microbiological safety in the food industry is based on the constant evaluation of its products. Fish farming is a growing activity that requires potential human pathogens to be evaluated. We aimed to determine the presence of *Vibrio* sp. in trout (*Oncorhynchus mykiss* and *Salmo trutta*) from two fish farms in Huaral, Lima 2020. **Materials and Methods:** A prospective observational study was designed in two fish farms (El Molino and El Angelito) in Huaral, Lima. The guide for the management of trout of the Instituto del Mar de Perú (IMARPE) was used. The sampling was carried out following the methods of Sierralta et al (2016) and the microbiological culture was carried out with conventional bacteriological methods (identification in Vitek 2 Compact) from trout scales and visors. **Results:** 96 samples from each site were analyzed (192 in total). The culture of trout scales and visors at El Molino allowed the identification of *Escherichia coli* in 100% and 85.7%, respectively. In El Angelito, 18 (80%) strains of *E. coli* and 2 (20%) strains of *Klebsiella pneumoniae* were identified in scales; and 17 (85%) from *E. coli*, and 2 (10%) from *K. pneumoniae* from visors. *Aeromonas hydrophila/caviae* was identified in visors and no culture was positive for *Vibrio* sp. **Conclusions:** The presence of *Vibrio* sp. was not determined in trout (*Oncorhynchus mykiss* and *Salmo trutta*) from two fish farms in Huaral, Lima 2020.

Key words: trout, bacteria, *Vibrio*, fish farm, food microbiology.

CAPITULO I

EL PROBLEMA

1.1. Planteamiento del problema

La salud alimentaria es uno de los principales objetivos de las Naciones Unidas para el 2030, en el marco de los Objetivos de Desarrollo Sostenible.¹ Este objetivo, de Salud Humana, ha sido presentado como uno de los componentes necesarios para el progreso de las comunidades en todo el mundo y su labor es velar por la calidad de alimentos producidos, almacenados y transportados para la alimentación humana y animal.²

Sin embargo, actualmente muchas comunidades consumen alimentos contaminados, por ello, es necesario mejorar la comprensión de las causas y los efectos de la contaminación del agua agrícola, de los cultivos, de los animales de criaderos para alimentación, entre otros, así como medios efectivos para prevenir y remediar el problema.³

La contaminación del agua es uno de los aspectos más resaltantes en la industria alimentaria, y la microbiología industrial es la ciencia encargada de examinar los impulsores de la contaminación del agua en estos sectores (agrícola, acuícola, etc.), así como las coacciones y cambios resultantes en las fuentes agua, los impactos

asociados en la salud humana y medio ambiente, y las respuestas necesarias para prevenir la contaminación y mitigar sus riesgos.^{4,5}

La vibriosis es una enfermedad bacteriana globalmente amenazante que afecta a la maricultura y acuicultura con alta mortalidad y graves pérdidas económicas.^{6,7} Esta es causada por especies de *Vibrio* (como *V. cholerae*, *V. Parahaemolyticus*, *V. anguillarum*, ente otras) que afectan a especies marinas y especies de agua dulce. Los criaderos de peces de agua dulce como las truchas son frecuentes en todo el mundo, pero principalmente en países que destinan gran parte de su economía interna a la producción acuícola.³ En el Perú, la producción de truchas en piscigranjas es una actividad cosmopolita que se centra en ciertas comunidades, como Cajamarca y Huaral, que aprovechan estos recursos para generar ingresos económicos.

La principal complicación de la infección humana a través de estos alimentos es el cólera, enfermedad diarreica, con alta mortalidad anual y una amenaza latente por su carácter pandémico. Sin embargo, existen otras especies que pueden ocasionar infecciones de gran escala en humanos, estas especies además están asociadas no solo a peces de agua salina, si no a especies de agua dulce, como las truchas (peces de la subfamilia *Salmoninae*) que son alimentos ampliamente consumidos por diversas poblaciones como la peruana.^{8,9} Varios estudios han situado a *V. anguillarum* como el principal agente de Vibriosis en truchas¹⁰⁻¹², otros estudios han determinado la posibilidad de infección por patógenos ampliamente conocidos por los humanos como *V. choleare*.¹³

Ante esta problemática nos planteamos el siguiente problema de investigación:

1.2. Formulación del problema

¿Existe *Vibrio sp.* en truchas (*Oncorhynchus mykiss* y *Salmo trutta*) provenientes de dos piscigranjas de Huaral, Perú 2020?

1.2.1 Problemas específicos

1. ¿Existe *Vibrio sp.* en la cavidad visceral de las truchas (*Oncorhynchus mykiss* y *Salmo trutta*) provenientes de dos piscigranjas de Huaral, Perú 2020?
2. ¿Existe *Vibrio sp.* en la superficie escamosa de las truchas (*Oncorhynchus mykiss* y *Salmo trutta*) provenientes de dos piscigranjas de Huaral, Perú 2020?

1.3. Objetivos

1.3.1. General

Determinar la presencia de *Vibrio sp.* en truchas (*Oncorhynchus mykiss* y *Salmo trutta*) provenientes de dos piscigranjas de Huaral, Lima 2020.

1.3.2. Específicos

1. Detectar *Vibrio sp.* en la cavidad visceral de las truchas (*Oncorhynchus mykiss* y *Salmo trutta*) provenientes de dos piscigranjas de Huaral, Perú 2020.
2. Detectar *Vibrio sp.* en la superficie escamosa de las truchas (*Oncorhynchus mykiss* y *Salmo trutta*) provenientes de dos piscigranjas de Huaral, Perú 2020.

1.4. Justificación

1.4.1. Justificación teórica

Conforme los objetivos de seguridad alimentaria considerados como cruciales en la alimentación mundial desde hace más de un hemisiglo, los productos y procesos alimentarios deben de cumplir con los requerimientos de calidad que aseguren un productos exento de problemas sanitarios para su público consumidor humano y animal. Es por ello que diferentes campos, como la acuicultura prevén de herramientas para evitar el desarrollo de infecciones o contaminantes sobre sus productos alimentarios.

La acuicultura como proceso industrializado en la producción de alimento basado en especies marianas tiene el objetivo de mantener una calidad sanitaria durante todo el proceso de producción de alimentos, es decir desde la siembra, cría y distribución de alimentos acuícolas. Al igual que muchos países, el Perú es un importante productor de especies marinas de manera general, y específicamente tiene un importante desarrollo de la truchícola en ciertas regiones donde esta representa una renta para las poblaciones encargadas de las mismas. Este estudio, en ese sentido, tiene por finalidad evaluar la calidad microbiológica de las truchas de dos centros de crianza en una provincia de Lima. Este estudio centra su análisis microbiológico en detectar Vibriosis, ya que estas especies no son ajenas a infecciones por especies del genero Vibrio.

La importancia teórica de este estudio radica en el desarrollo del conocimiento sobre que especies de Vibrio son frecuentemente aisladas en estos peces.

1.4.2. Justificación Metodológica

El aporte metodológico de esta investigación está dado por el manejo estadístico de datos finales a partir de evaluaciones iniciales cualitativas de los cultivos y de los aislamientos obtenidos de los mismos.

1.4.3. Justificación práctica

Finalmente, el aporte práctico del estudio radica en el conocimiento general sobre las especies infectadas con especies de *Vibrio*, el potencial riesgo que estas pudieran representar para la salud de la población de Huaral, y los centros que pudieran tener mejores condiciones de crianza de truchas, según la ejecución del análisis bacteriológico que se realizará.

1.5. Delimitaciones

1.5.1. Temporal

El presente estudio se desarrolló durante el año 2020.

1.5.2. Espacial

El presente estudio se desarrolló en dos piscigranjas privadas ubicadas en Huaral, Lima.

1.5.3. Recursos

El presente estudio contó con recursos económicos propios del investigador.
Asimismo contó con el apoyo de los trabajadores de cada truchicola visitada durante el trabajo de campo.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 . Antecedentes

2.1.1. Antecedentes internacionales

Akyli et al (2018) en su estudio titulado “Diagnosis of *Vibrio anguillarum* in Cultured Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) by Different Methods” evidencio la infección causada por *Vibrio anguillarum* en 15 truchas arco iris cultivada (*Oncorhynchus mykiss*), en Turquía con métodos bacteriológicos e histopatológicos. Sus resultados demostraron el aislamiento e identificación de *V. anguillarum*, debido a las características fisiológicas y bioquímicas de las bacterias que Presentaron hiperemia en el hígado, degeneración del epitelio de los túbulos renales y necrosis en el área intersticial, agrandamiento de los filamentos branquiales, y varias áreas necróticas en el bazo. Esta infección estuvo acumulada en el hígado, el bazo, los riñones y branquias, especialmente en las áreas cercanas a los vasos sanguíneos, según la etapa de desarrollo de la enfermedad. Los autores concluyen que el aislamiento de *V. anguillarum* en los tejidos infectados de trucha arcoíris fue determinado con métodos histopatológicos y bacteriológicos.¹⁰

Balta & Dengiz (2017) En el estudio se realizó un perfil de resistencia a antibióticos, serotipos e identificación de *Vibrio anguillarum* aislado de trucha arcoiris

(*Oncorhynchus mykiss*) cultivada en jaulas en la región oriental del Mar Negro de Turquía. Las técnicas bioquímicas, serológicas y moleculares utilizadas en la identificación de aislados de *V. anguillarum*, fueron confirmados mediante secuenciamiento y comparación con las secuencias de *V. anguillarum*, de la base de datos del GenBank. Se encontró una tasa de similitud del 97-99% entre los aislamientos comparados. Todos los aislamientos se identificaron como serotipo O1 mediante los resultados de la prueba de aglutinación en placa. Los resultados de la prueba de sensibilidad a los antibióticos mostraron que los aislados de *V. anguillarum* eran 100% resistentes al sulfametoxazol, 90.6% a la ampicilina, 71.9% a la eritromicina, 62.5% a la oxitetraciclina, 46.9% a la estreptomina y 31.3% a la trimetoprima-sulfametoxazol, pero susceptibles al ácido oxolinico, enrofloxacina y florfenicol.¹¹

Rehulka et al. (2015) Aislaron *Vibrio cholerae* patógeno no O1/no O139 de los alevines del cardenal tetra, *Paracheiroidonaxelrodi* y en el bagre *Raphael* adulto y *Platydorascostatus* mantenida en condiciones de acuario. Además, determinaron un brote de vibriosis en las poblaciones salvajes comunes como *Chondrostomanusus*; *chub*, *Squaliuscephalus*; *gobio*, *Gobio gobio*; *loach* de piedra, *Barbatulabarbatula*; *barbel*, *Barbusbarbus*; *Tímalo* europeo, *Thymallusthymallus*; *Schneider*, *Alburnoidesbipunctatus*; y trucha marrón, *Salmo truttamorphatrutta*. No determinaron mortalidad en el pez euroasiático, *Phoxinusphoxinus*. Evaluaron durante 14 días, el proceso agudo más que el sub agudo a crónico de la enfermedad que prevaleció con lesiones graves en la nariz con resfriados comunes (hemorragias difusas y focales, eritema e hiperemia localizadas especialmente en la región

abdominal, dentro de la boca y en la base de las aletas). Solo en la infección de la nariz común se vio afectado todo el ojo, causando la ruptura del globo y la destrucción de las estructuras oculares. Las lesiones patológicas graves en peces infectados experimentalmente se manifestaron como jadeo, natación errática, capilares congestionados en la pared de la vejiga de aire y acumulación de líquido y sangre en la cavidad abdominal. Un inoculo de 2×10^4 bacterias (carpa común, trucha arcoiris) y de 2×10^8 bacterias (población salvaje) intra peritoneales resultó en mortalidad dentro de las 120 h y 16 h, respectivamente. Concluye resaltan los factores subyacentes al aumento de la infección, incluyendo un aumento extraordinario en la temperatura del agua (20°C a 23°C), el contenido fluctuante de oxígeno y el bajo nivel de agua que contribuyeron a aumentar la concentración de la contaminación fecal del agua: estos factores podrían estimular la virulencia de los vibrios, que sobreviven en la flora y fauna acuáticas y en la biopelícula en la superficie de los sedimentos.¹²

Dididen et al. (2013) evaluaron bacterias probióticas candidatas para su uso como probióticos contra la vibriosis en la trucha arco iris. Para ello aislaron 143 cepas bacterianas de agua de cría de trucha arco iris, y analizaron branquias y moco de la piel la actividad antagonista contra *V. anguillarum*. Las cepas antagónicas se caracterizaron por su actividad enzimática (proteasa, lipasa) e hidrofobicidad. Las bacterias pertenecientes al género *Aeromonas* y *Pseudomonas* mostraron actividad inhibitoria contra *V. anguillarum*. *Aeromonas* sp. HS23 mostró actividad proteasa y lipasa, mientras que *Aeromonas* sp. MS30 muestra solo actividad de lipasa. *Pseudomonas* spp., no mostró actividad enzimática. Concluyen que todas las

bacterias mostraron hidrofobia indicando su capacidad de adherencia al huésped, sin embargo, estas cepas deben estudiarse más a fondo para explorar sus efectos probióticos *in vivo*.¹³

Avci et al. (2012) compararon los datos clínicos, patológicos e inmunohistoquímicos observados en truchas arcoiris infectadas experimentalmente con *V. anguillarum* de acuerdo con la ruta de inoculación (inyección intraperitoneal versus inmersión). Para ello, 20 peces fueron inoculados intraperitonealmente con 5.5×10^7 UFC de *V. anguillarum* serotipo O1 y otros 20 animales fueron expuestos a 50 mL de inóculo bacteriano (5.5×10^5 UFC/ mL) diluido en agua (30 L) durante 30 minutos, mientras que 2 grupos de los peces de control (n=8 en cada grupo) fueron manipulados de manera similar y solo expuestos al vehículo. La mortalidad y los signos clínicos se registraron diariamente y la necropsia, histopatología usando tinción convencional e inmunohistoquímica usando anticuerpos policlonales dirigidos contra los antígenos de *V. anguillarum* se realizaron en peces que murieron o murieron espontáneamente. Las tasas de mortalidad fueron del 55% cuando las truchas se inocularon por vía intraperitoneal y del 40% cuando se expusieron a bacterias por inmersión. La mayoría de las muertes ocurrieron entre el tercer y el noveno día, y entre el quinto y el onceavo día, respectivamente. La hiperemia y las hemorragias asociadas al edema se observaron predominantemente en la piel, los músculos y las branquias, y en menor medida en los órganos viscerales (hígado, corazón, bazo, estómago) y en los tejidos grasos abdominales en las truchas inoculadas intraperitonealmente. La histopatología también ha confirmado la naturaleza de las lesiones y también han evidenciado degeneración celular y necrosis asociada a

grupos de bacterias, así como el aumento de las células granulares eosinófilas (EGC) y la desgranulación en las branquias y el estómago. En las truchas inoculadas por inmersión, se observaron lesiones similares, pero más leves en un número menor de peces infectados, excepto que las lesiones branquiales estaban sistemáticamente presentes y bien marcadas. La inmunopositividad a los antígenos bacterianos en los tejidos lesionados se observó solo durante la fase aguda de la enfermedad (por ejemplo, hasta los días 15 y 11 según la ruta de inoculación). Concluyen que claramente existe patogenicidad de *V. anguillarum* en las truchas arcoíris principalmente después de la inoculación intraperitoneal y sugieren que las branquias durante la inmersión pueden ser el sitio primario de entrada de la bacteria.¹⁴

2.1.1. Antecedentes nacionales

Sierralta et al (2016) Reportaron la presencia de *Plesiomonas shigelloides* dentro del curso de un proceso entérico en tilapia *Oreochromis niloticus* en una piscigranja de la región Lima, Perú. Este aislamiento se realizó con técnicas bioquímicas convencionales y confirmadas por el sistema API 20NE. Estas cepas (n=4) presentaron características típicas de esta bacteria como metabolismo fermentativo de glucosa, oxidasa positiva, etc. Los signos externos más frecuentes de la enfermedad fueron eritema en el vientre y las aletas pectorales, ano prominente y enrojecido con descarga sanguinolenta. El estudio anatomopatológico determinó intestino inflamado y la presencia de líquido ascítico en la cavidad visceral, además

de edema de la lámina propia y necrosis epitelial del tejido gástrico e intestinal, y necrosis en el riñón anterior y gónadas.¹⁵

2.2. Base teórica

2.2.1. Generalidades sobre truchas

La acuicultura en agua salubre y marina ha crecido en todo el mundo, incluyendo nuevas especies cultivadas.¹⁶ Las truchas es el nombre común para un grupo de especies de peces de agua dulce que pertenecen a los géneros *Oncorhynchus*, *Salmo* y *Salvelinus*, todos estos de la subfamilia *Salmoninae* de la familia *Salmonidae*. La trucha de lago y la mayoría de las otras truchas viven exclusivamente en lagos y ríos de agua dulce, mientras que hay otras, como el género *Steelhead*, que pueden pasar dos o tres años en el mar antes de regresar al agua dulce para desovar. Los *Steelhead* que no viven sus vidas en agua dulce se llaman trucha arcoiris. El *char* ártico y la trucha de arroyo son parte de la familia *char*. Las truchas son una fuente importante de alimento para los humanos y la vida silvestre, incluidos los osos pardos, las aves de rapiña como las águilas y otros animales como el hombre.¹⁷

2.2.2. Distribución de truchas

El nombre 'trucha' se usa frecuentemente para nombrar algunas especies en tres de los siete géneros en la subfamilia *Salmoninae*: estas incluyen *Salmo* (especies del Atlántico), *Oncorhynchus* (especies del Pacífico) y *Salvelinus* (peces

a veces llamados *char*). Los peces conocidos como truchas pueden clasificarse en los siguientes géneros:

a. Género *Salmo*

- Trucha Adriática, *Salmo obtusirostris*
- Trucha marrón, *Salmo trutta*
 - Trucha de río, *Salmo trutta morpha fario*
 - Trucha de lago (lacustre), *Salmo truttamorpha lacustris*
 - Trucha de mar, *Salmo truttamorpha trutta*
- Trucha de mármol (del río Soca o de Soča), *Salmo marmoratus*
- Trucha de Ohrid, *Salmo letnica*, *S. lumi* y *S. aphelios*
- Trucha cabeza plana, *Salmo platycephalus*
- Trucha Sevan, *Salmo Ischchan*

b. Género *Oncorhynchus*

- Trucha arcoiris, *Oncorhynchus mykiss*
- Trucha Biwa, *Oncorhynchus masourhodurus*
- Trucha asesina, *Oncorhynchus clarki*
 - Trucha de garganta costera, *Oncorhynchus clarki Clarki*
 - Trucha Crescenti, *Oncorhynchus clarki Clarkif. Crescenti*
 - Trucha asesina Alvord, *Oncorhynchus clarkialvordensis*
 - Trucha asesina Bonneville, *Oncorhynchus clarki Utah*

- Trucha asesina de Humboldt, *Oncorhynchus clarkii humboldtensis*
- Lahontan trucha asesina, *Oncorhynchus clarkii henshawi*
- Paiute trucha asesina, *Oncorhynchus clarkii seleniris*
- Trucha de garganta fina moteada del río Snake, *Oncorhynchus clarkii behnkei*
- Trucha salvaje de Westslope, *Oncorhynchus clarkii lewisi*
- Trucha garganta cortada aleta amarilla, *Oncorhynchus clarkii macdonaldi*
- Trucha asesina de Yellowstone, *Oncorhynchus clarkii bouvieri*
- Trucha asesina del río Colorado, *Oncorhynchus clarkii pleuriticus*
- Trucha verde feroz, *Oncorhynchus clarkii stomias*
- Trucha asesina de Río Grande, *Oncorhynchus clarkii virginalis*
- Trucha Gila, *Oncorhynchus gilae*
- Trucha apache, *Oncorhynchus gilae apache*
- Trucha arcoiris, *Oncorhynchus mykiss*
- Trucha arcoiris de Kamchatkan, *Oncorhynchus mykiss mykiss*
- Trucha de banda roja del río Columbia, *Oncorhynchus mykiss gairdneri*
- Trucha arcoíris costera (steelhead), *Oncorhynchus mykiss irideus*
- Trucha Beardslee, *Oncorhynchus mykiss irideus* var. *Beardsleei*
- Gran Cuenca trucha de banda roja, *Oncorhynchus mykiss newberrii*
- Trucha dorada, *Oncorhynchus mykiss aguabonita*

- Trucha arcoiris del río Kern, *Oncorhynchusmykissaguabonitavar. Gilberti*
- Sacramento trucha dorada, *Oncorhynchusmykissaguabonitavar. Stonei*
- Pequeña trucha dorada Kern, *Oncorhynchusmykissaguabonitavar. whitei*
- Trucha arcoiris de Kamloops, *Oncorhynchusmykisskamloops*
- Trucha arcoiris de Baja California (Nelson), *Oncorhynchusmykissnelsoni*
- Trucha de Eagle Lake , *Oncorhynchusmykissaquilarum*
- Trucha de banda roja del río McCloud, *Oncorhynchusmykissstonei*
- Trucha dorada mexicana, *Oncorhynchuschrysogaster*

c. Género Salvelinus (Char)

- Trucha de arroyo, *Salvelinusfontinalis*
 - Trucha Aurora, *Salvelinusfontinalistimagamiensis*
- Trucha Toro, *Salvelinusconfluentus*
- Trucha Dolly Varden, *Salvelinusmalma*
- Trucha de lago , *Salvelinusnamaycush*
- Trucha plateada, *Salvelinusagassizi*

d. Híbridos

- Trucha de lago moteado (Splake), *Salvelinus namaycush* X *Salvelinus fontinalis*
- Trucha tigre, *Salmo trutta* X *Salvelinus fontinalis*

2.2.3. Morfología de las truchas

Las truchas que viven en diferentes entornos pueden tener coloraciones y patrones dramáticamente diferentes. Principalmente, estos colores y patrones se forman como camuflaje, según el entorno, y cambiará a medida que el pez se mueva a diferentes hábitats.¹⁷ La trucha recién regresada del mar, puede verse muy plateada, mientras que el mismo pez que vive en un pequeño arroyo o en un lago alpino podría tener marcas pronunciadas y una coloración más vívida. También es posible que en algunas especies esto signifique que están listas para aparearse. En general, las truchas que están a punto de reproducirse tienen una coloración extremadamente intensa. Pueden parecer un pez completamente diferente fuera de la temporada. Es prácticamente imposible definir un patrón de color particular como perteneciente a una raza específica; Sin embargo, en general, se afirma que los peces salvajes tienen colores y patrones más vivos.¹⁸

Las truchas tienen aletas completamente sin espinas, y todas tienen una pequeña aleta adiposa a lo largo de la espalda, cerca de la cola. Las aletas pélvicas se sientan bien en el cuerpo, a cada lado del ano. La vejiga natatoria está conectada al esófago, lo que permite tragar o expulsar rápidamente el aire (fisostoma). A diferencia de muchos otros peces fisostomos, las truchas no usan su vejiga como

un dispositivo auxiliar para la absorción de oxígeno, confiando únicamente en sus branquias.¹⁹

Hay muchas especies, e incluso más poblaciones, que están aisladas unas de otras y morfológicamente diferentes. Sin embargo, dado que muchas de estas poblaciones distintas no muestran diferencias genéticas significativas, la mayoría de los ictiólogos consideran que una gran cantidad de especies es una cantidad mucho menor de especies distintas. Las truchas encontradas en el este de los Estados Unidos son un buen ejemplo de esto.¹⁹ La trucha de arroyo, la trucha aurora y la trucha de plata tienen características físicas y coloraciones que las distinguen, pero el análisis genético muestra que son una especie, *Salvelinus fontinalis*.¹⁶

La trucha de lago (*Salvelinus namaycush*), como la trucha de arroyo, pertenece al género *char*. La trucha de lago habita en muchos de los lagos más grandes de América del Norte y vive mucho más tiempo que la trucha arcoiris, que tiene una vida útil promedio máxima de 7 años.¹⁹

2.2.4. Aspecto nutritivo de las truchas

La trucha generalmente se alimenta de otros peces, y de invertebrados de cuerpo blando acuáticos, tales como moscas, frigáneas, moluscos y libélulas. En los lagos, varias especies de zooplancton a menudo forman una gran parte de la dieta de las truchas. En general, las truchas de aproximadamente 300 milímetros se alimentan casi exclusivamente de peces, donde están disponibles. La trucha adulta se alimenta peces más pequeños de hasta 1/3 de su longitud. Además, la

trucha puede alimentarse de camarones, gusanos de la harina, larvas de mosquito, insectos, partes de animales pequeños, y anguila.¹⁸

2.2.5. Infecciones en truchas

Las truchas están expuestas a varias infecciones, las principales son las infecciones bacterianas. Se producen varias infecciones por *Vibrio*, y causan problemas significativos en peces, crustáceos y mariscos. *Vibrio anguillarum*, *V. salmonicida*, *V. ordalii* *V. vulnificus* se encuentran entre los patógenos que ocasionan las mayores pérdidas en la acuicultura en todo el mundo.

Las especies de *Vibrio* son ubicuas en los ecosistemas acuáticos. Son bacterias termodependientes y son capaces de persistir en el agua de mar. Las especies de *Vibrio spp.*, son potenciales agentes zoonóticos para los humanos a lo largo de los años de desarrollo de la acuicultura y truchicola urbana y doméstica, causando riesgo de zoonosis en profesionales de la acuicultura y en consumidores de productos acuícolas.

2.2.3. Vibriosis

Las principales especies que ocasionan la Vibriosis (infección por especies del género *Vibrio*) son *V. vulnificus*, *V. anguillarum*, *V. ordalii*, *Vibriosalmonicida*, *V. splendidus*, *V. logei* and *V. tapetis*. Estos son problemas para la salud alimentaria en muchos países con alto desarrollo de la truchicultura, como Noruega, Holanda, Dinamarca, Perú, España, entre otros.^{20,21}

V. vulnificus ocasiona Vibriosis que pueden afectar a humanos, camarones y peces.²² Esta bacteria es heterogénea y comprende tres biotipos y más de 9 serovates. El biotipo 2 tiene una distribución mundial y el único biotipo relacionado con enfermedad epizootica.²³

V. anguillarum es otra especie que causa enfermedad en numerosos peces, principalmente en truchas. Los serotipos O1, O2a, O2a-biotipo II, O2b son comúnmente aislados. El serotipo O1 provenientes de la trucha arcoíris, el salmón y los peces limpios, y el serotipo O2b del pez campana, la trucha de california son ampliamente reportados como infecciones frecuentes en truchas.²⁰ El nuevo serogrupo O2a biotipo II ha sido reportado con altas tasas recientemente en truchas. Los brotes de Vibriosis en truchas ocasionadas por *V. anguillarum* han sido reportadas en aguas con altas temperaturas (>14°C) siendo necesario realizar actividades de vacunación.²⁴

2.2.4. Métodos diagnósticos para Vibriosis en truchas

El aislamiento de especies de *Vibrio spp.* en truchas puede ser realizado con métodos bacteriológicos convencionales. Estos incluyen el uso de agar infusión cerebro corazón o Agar tripticasa soya suplementado con 5% de sangre y con una concentración de ClNa de 0.5-3.5%, y con el agar selectivo TCBS a una incubación de 15-25°C.¹⁶ La identificación de especies por bioquímica cursa como una dificultad, aunque los sistemas automatizados han posibilitado mejorar la capacidad de reconocerlos. Las pruebas serológicas y la biotipificación son importantes métodos de subtipificación de las especies de *Vibrio*. Para *V. vulnificus* biotipo 2 se

usan los métodos de aglutinación u el inmunobloting del antígeno O.^{25,26} La serotipificación para *V. anguillarum* se usa con frecuencia en muchos países escandinavos para la evaluación de la eficacia del uso de vacunas y para distinguir entre bacterias medioambientales y patogénicas.

Otras pruebas disponibles para la determinación de infecciones en truchas incluyen ensayos de PCR multiplex, estos permiten la evaluación de las secuencias de virulencia de estas especies.²⁷ Asimismo, se pueden utilizar métodos de MLST para la tipificación de *V. vulnificus*.²⁸ El MALDI-TOF (Matrix-assisted laser desorption/ionization Time-of-Flight) ha demostrado ser un método eficiente, barato, rápido y eficiente para el diagnóstico y subtipificación de bacterias asociadas a infección de truchas.²⁹ Asimismo, los sistemas informáticos de acceso abierto ofrecen base de datos de las principales especies de *Vibrio* causantes de enfermedad humana, sin embargo esta base de datos necesita ser ampliada con más especies acuáticas de *Vibrio*.

2.3. Hipótesis

2.3.1. Hipótesis general

Conforme la naturaleza de la investigación el estudio no amerita hipótesis.

CAPITULO III

DISEÑO Y MÉTODO

3.1. Método de investigación

Método hipotético deductivo, esto debido a que se siguieron paso a paso los componentes del método científico.³⁰

3.2. Enfoque de investigación

Enfoque cuantitativo, dado que el abordaje de los datos fue cuantitativo según los objetivos del estudio.³⁰

3.3. Tipo de Investigación

El tipo de investigación fue de tipo Aplicado, ya que se aplicaron métodos previamente desarrollados.³⁰

3.4. Diseño de investigación

Según la manipulación de la variable

Se define el estudio como observacional, debido a que no se manipularán las variables y se desarrollara una evaluación microbiológica de las truchas.³⁰

Según la fuente de toma de datos

Se define el estudio como prospectivo, debido que los datos fueron recolectados desde la ejecución del estudio hacia adelante.³⁰

Según el número de mediciones

Se define el estudio como transversal, debido a que la evaluación del suministro de sangre y los costos se realizó en un solo momento.³⁰

3.5. Población y muestra

3.5.1. Población

La población del objeto de estudio la constituyeron las truchas de dos piscigranjas de Huaral, Perú analizados durante el 2020.³⁰

3.5.2. Muestra

La muestra estuvo conformada por 192 truchas de dos piscigranjas de Huaral, Perú analizados durante el 2020. Se realizaron por cada piscigranja 48 evaluaciones por duplicado.

3.5.3. Criterios de inclusión

1. Peces adultos mayores de 7 semanas de vida.
2. Peces adultos con más de 200 gramos de peso.
3. Peces adultos que se encuentren en fase de Engorde II

3.5.4. Criterios de exclusión

1. Truchas jóvenes (alevines).
2. Truchas enfermas
3. Siembras recién interpuestas y con poco tiempo de adaptación
4. Especies de truchas que no pertenezcan a los géneros *Oncorhynchus* y *Salmo*.

3.5.5. Muestreo

Para determinar el tamaño muestral se utilizó la siguiente fórmula muestral para población infinita:

Fórmula:

$$n = \frac{Z_{\alpha \times (p \times q)}^2}{e^2}$$

Dónde:

Z_{α} =Nivel de confianza (95% = 1.96)

p=Probabilidad esperada (0.90)

q=Variabilidad esperada (0.10)

e=error máximo permisible (0.05)

Reemplazando:

$$n = \frac{1.96^2 \times (0.90 \times 0.10)}{0.05^2}$$

$n=138.28$

Tamaño muestral mínimo de 138 muestras evaluadas

3.6. Variables y operacionalización

- **Variable Dependiente**

Aislamiento de *Vibrio sp.* en truchas

3.6.1. Operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSIONES	ESCALA DE MEDICION	ESCALA VALORATIVA
Aislamiento de <i>Vibrio sp.</i>	Rasgos microbiológicos que determinan la presencia de un microorganismo infeccioso compatible con <i>Vibrio sp.</i>	Aislamiento	Transporte de cepas Aislamiento primario Identificación bioquímica	UFC

3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.7.1. Técnica

Técnica de análisis de campo de muestras de truchas.³⁰

3.7.2. Descripción de instrumentos

Instrumento: Ficha de recolección de datos creado por el autor (**Anexo 2**).

3.7.3. Ubicación demográfica

El muestreo conforme los objetivos de estudio se realizó en dos piscigranjas de la ciudad de Huaral (11°30'03"S 77°12'33"O), distrito de Huaral, Provincia de Lima. Esta ciudad está ubicada al norte de Lima metropolitana y la población urbana y periurbana es productora de truchas. La truchicultura es desarrollada de manera legal con diferente grado de calidad y para este estudio se le presentó un documento informativo y solicitud de autorización del uso de peses a los dueños de cada piscigranja (Anexo 2). Las piscigranjas incluidas en este estudio correspondieron al norte, sur y centro de la ciudad, que usan agua municipal para el criadero de estos peces de agua dulce (Anexo 3).

3.7.4. Evaluación microbiológica

Se siguieron las recomendaciones de la guía para el manejo de truchas del Instituto del Mar de Perú (IMARPE) (32). En cada piscigranja se realizó el muestreo por duplicado de 24 truchas conforme los objetivos de estudio, con 96 evaluaciones en total por cada piscigranja y 192 globalmente. El muestreo según el siguiente protocolo de trabajo siguiendo los métodos de Sierralta et al (2016) (12):

- a) Se realizaran hisopados de la superficie escamosa de las truchas (*Oncorhynchus mykiss* y *Salmo trutta*) por duplicado.

- b) Se realizaran hisopados de la cavidad visceral de las truchas (*Oncorhynchus mykiss* y *Salmo trutta*) por duplicado.

Todos los hisopados fueron transportados con el sistema de transporte de muestras Amies (Deltalab) Estas serán almacenadas hasta su procesamiento en conjunto.

Las muestras de hisopado fueron sembrados por dispersión o agotamiento sobre un medio de aislamiento diferencial (Agar McConkey) y medio selectivo (TCBS) ambos de Merck (Darmstadt, Alemania), que fueron incubadas $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ en condiciones aeróbicas durante 24 horas (positivos ≥ 1 UFC/ml).³⁰ Los aislamientos en los medios de cultivo fueron identificados mediante el sistema Vitek® 2 Compact (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, Francia).

Los resultados fueron recolectados en una ficha estructurada para la colección de datos conforme los objetivo del estudio (Anexo 4).

3.7.5. Recolección de datos

El procesamiento de datos se realizara desde la fecha de recolección de datos. Estos serán tabulados hacia una hoja de cálculo en MS-Excel 2010. Se consideraran los datos de crecimiento bacteriano (en Unidades Formadoras de Colonias por ml) en la identificación de las especies de *Vibrio sp.*

3.8. Plan de procesamiento y análisis de datos

El análisis de datos se realizó en el programa estadístico SPSS v22.0 (IBM, Armonk, USA) para Linux. Se utilizara estadística descriptiva como medidas de tendencia central y frecuencias absolutas y relativas. Para estimar la variación entre los aislamientos obtenidos de las piscigranjas analizadas en Huaral se utilizó la prueba de X^2 cuadrado considerando como significativos un p valor < 0.05 y un intervalo de confianza de 95%.

3.9. Aspectos éticos

Los autores siguieron la normatividad internacional para el desarrollo de investigación científica con el uso de animales de experimentación según la Office of Animal Care and Use of National Institute of Health. Además, se cumplieron los lineamientos de investigación en salud bajo los aspectos bioéticos.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

Se desarrolló el análisis de muestras provenientes de truchas en dos piscigranjas de Huaral, El Molino y El Angelito. En ambos lugares se realizaron los muestreos obteniéndose un total de 96 muestras de cada lugar, siendo 192 en total. Se realizaron los cultivos y se obtuvo un promedio de las Unidades Formadoras de Colonia por cada medio de cultivo utilizado.

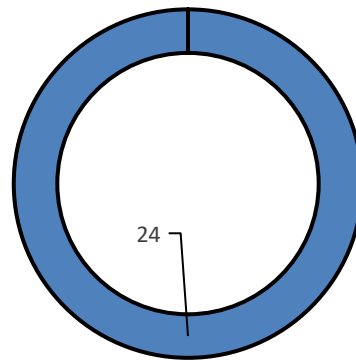
Por cada esquema de muestreo se obtuvieron diferentes aislamientos, siendo el muestreo de escamas en la piscigranja. El Molino el único que sobre Agar McConkey presento la totalidad aislamientos positivos. En las muestras de escamas de la Piscigranja El Angelito, se obtuvo aislamiento variado de dos especies bacterianas.

Tabla 1. Frecuencia de bacterias aisladas de escamas de truchas provenientes de la piscigranja El Molino, Huaral. N=24.

Aislamiento	N	%
<i>E. coli</i>	24	100
<i>Vibrio sp.</i>	0	0

Fuente: Primaria

Creación: propia



■ *E. coli* ■ *Vibrio sp.*

Fuente: Primaria

Creación: propia

Figura 1. Bacterias aisladas de escamas de truchas provenientes de la piscigranja El Molino, Huaral. N=24.

Los cultivos permitieron identificar bacilos Gram negativos que difirieron según el área de muestreo. Usando métodos bacteriológicos en la piscigranja El Molino se aislaron únicamente *Escherichia coli* en la totalidad de sus cultivos de escamas de truchas (**Tabla y Figura 1**).

Asimismo, los cultivos de vísceras permitieron identificar otras especies de Enterobacterias. Los cultivos de viseras, abiertas y cerradas, permitieron identificar respectivamente 18 (85.7%) y 15 (71.4%) de aislamientos correspondientes con *Escherichia coli* (**Tabla 2**). Asimismo, el cultivo de viseras abiertas permitieron identificar la presencia de 1 (4.8%) aislamiento de *Klebsiella pneumoniae* (**Figura 2**).

Tabla 2. Frecuencia de bacterias aisladas de vísceras de truchas provenientes de la piscigranja El Molino, Huaral.

Tipo de muestra	Aislamiento	n	%
Visera cerrada	<i>E. coli</i>	18	85.7
	<i>Proteus sp.</i>	3	14.3
	<i>Vibrio sp.</i>	0	0
Visera abierta	<i>E. coli</i>	15	71.4
	<i>K. pneumoniae</i>	1	4.8
	<i>Proteus sp.</i>	5	23.8
	<i>Vibrio sp.</i>	0	0

Fuente: Primaria *Creación: propia*

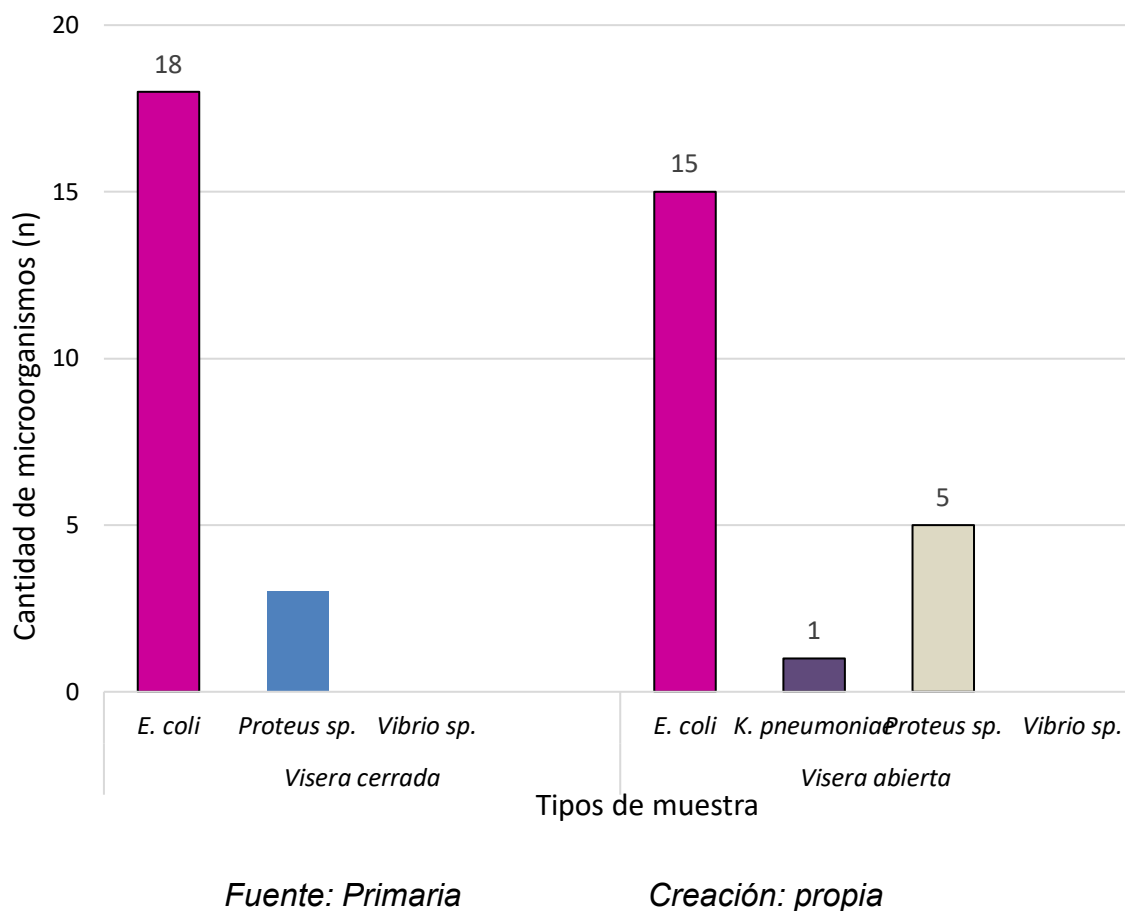


Figura 2. Distribución bacterias aisladas de vísceras de truchas provenientes de la piscigranja El Molino, Huaral.

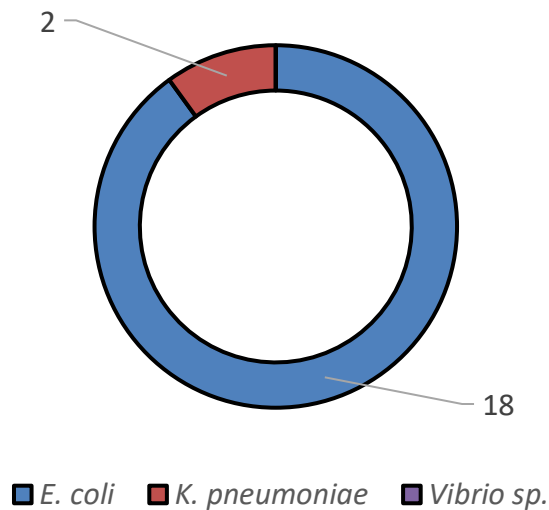
Asimismo, en la piscigranja El Angelito se aislaron en muestras de escamas de truchas, 18 (80%) cepas de *Escherichia coli* y 2 (20%) cepas de *Klebsiella pneumoniae* (Tabla y Figura 3).

Tabla 3. Frecuencia de bacterias aisladas de escamas de truchas provenientes de la piscigranja El Angelito, Huaral. N=20.

Aislamiento	N	%
<i>E. coli</i>	18	80
<i>K. pneumoniae</i>	2	20
<i>Vibrio sp.</i>	0	0

Fuente: Primaria

Creación: propia



Fuente: Primaria

Creación: propia

Figura 3. Bacterias aisladas de escamas de truchas provenientes de la piscigranja El Angelito, Huaral. N=20.

Los cultivos de vísceras permitieron identificar otras especies de Enterobacterias. Los cultivos de vísceras cerradas solo permitieron identificar *Escherichia coli* (17 cultivos) (Tabla y Figura 4). Sin embargo, el cultivo de viseras abiertas permitieron identificar 17 (85%) de *Escherichia coli* y 2 (10%) de *Klebsiella pneumoniae*.

Tabla 4. Frecuencia de bacterias aisladas de vísceras de truchas provenientes de la piscigranja El Angelito, Huaral.

Tipo de muestra	Aislamiento	n	%
Visera cerrada	<i>E. coli</i>	17	100
	<i>Vibrio sp.</i>	0	0
Visera abierta	<i>E. coli</i>	17	85
	<i>K. pneumoniae</i>	2	10
	<i>Vibrio sp.</i>	0	0
	<i>Aeromona Hydrophyla</i>	1	5

Fuente: Primaria

Creación: propia

En estas vísceras abiertas de esta piscigranja se aisló una especie diferente en medio TCBS (Figura 5) que fue determinada por métodos automatizados (Anexo 5). Se identificó *Aeromonas hydrophila/caviae*.

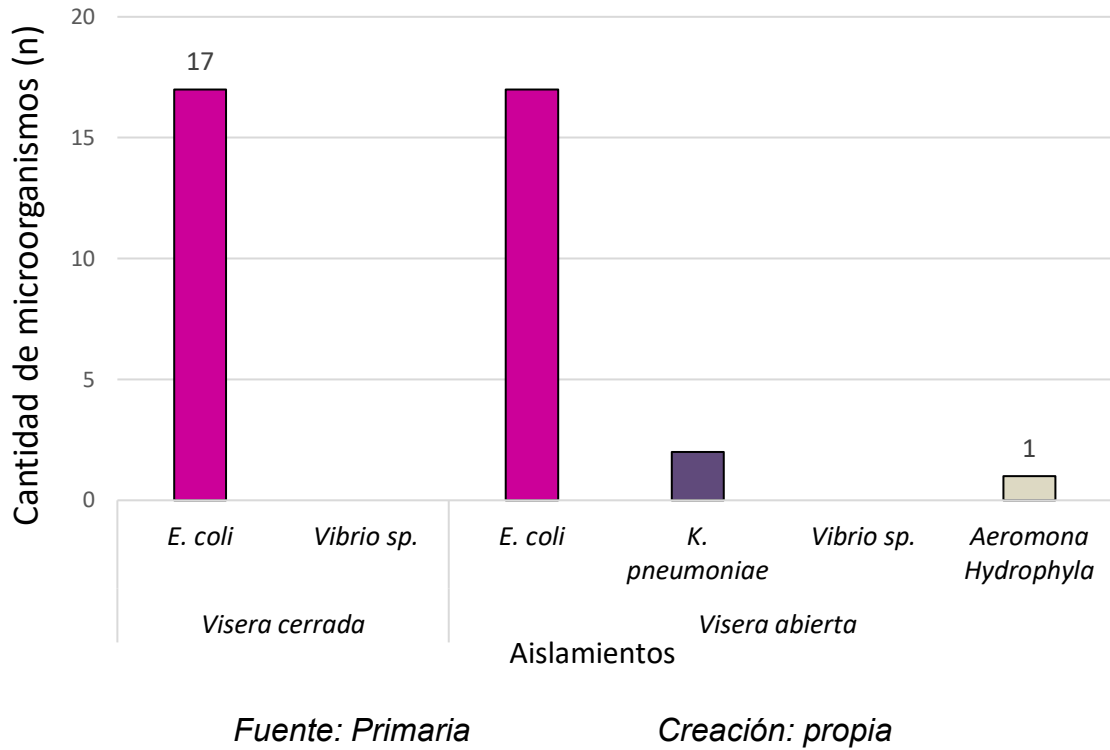
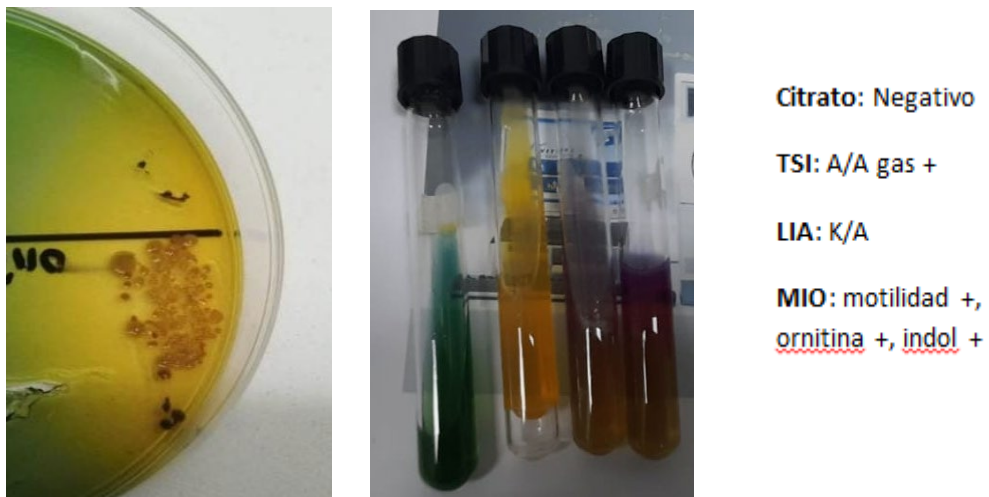


Figura 4. Distribución bacterias aisladas de vísceras de truchas provenientes de la piscigranja El Angelito, Huaral.



Fuente: Primaria Creación: propia

Figura 5. *Aeromonas hydrophila/caviae* aislada de muestra de vísceras abiertas de truchas de la piscigranja El Angelito.

Del total de cultivos, no se identificaron cepas correspondientes con alguna especie de *Vibrio sp.* Sin embargo, se aislaron diferentes Enterobacterias provenientes de escamas y vísceras de truchas de piscigranjas de Huaral.

4.2. Discusión

En el presente estudio se desarrolló una evaluación microbiológica en truchas provenientes de piscigranjas de Huaral, Lima-provincias, donde no se aislaron especies de *Vibrio sp.*, principalmente en muestra de viseras abiertas y cerradas. Existen recomendaciones nacionales (33) e internacionales que establecen la importancia de cribado de microorganismos de importancia para la salud humana y animal (31). Estos protocolos de trabajo en microbiología animal han sido desarrollados a fin de estimar la calidad de las especies de criaderos, más aun cuando estos son rurales o periurbanos. En Perú, existen organismos que se encargan de velar por la sanidad animal y plantean ciertos programas de controles programados sobre especies destinados a la alimentación humana (33). Sin embargo, estas instituciones no han realizado evaluaciones previas de microorganismos patogénicos como *Vibrio sp.* U otros en truchas, ya que estas representan un importante ingreso económico para los productores privados y públicos en todo el Perú.

Akyli et al (2018) demostraron la presencia de *Vibrio anguillarum* en 15 truchas (*Oncorhynchus mykiss*) en Turquía. Este reporte difiere del nuestro debido a que no aislamos ninguna especie de *Vibrio sp.* En el presente estudio. Si bien en

ambos estudios se utilizaron métodos bacteriológicos, se evidenciaron diferencias en la salud de las truchas durante su evaluación, ya que presentaban trastornos tisulares (hiperemia en el hígado, degeneración del epitelio de los túbulos renales y necrosis en el área intersticial, entre otros).¹⁰ Es posible que las truchas enfermas presenten mayor frecuencia de bacterias patógenas como *Vibrio*. Por su parte, el estudio de Balta & Dengiz (2017) demostró que *Vibrio anguillarum* como serotipo O1 aislado de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) de Turquía, demostró presencia y alta resistencia a sulfametoxazol, ampicilina, y eritromicina, entre otros.¹¹ Este estudio fue realizado también en Turquía, y en coincidencia con Akyli et al (2018) es posible que exista una mala calidad de los criaderos o que se tengan alta frecuencia de infecciones animales. Ya que cuando comparamos ambos estudios turcos, con nuestros resultados en Perú, discordamos en los hallazgos ya que las truchas estudiadas no han presentado aislamientos de especies de *Vibrio sp.* Esto podría evidenciar la calidad de las aguas y la seguridad e higiene en la crianza de las truchas, sin embargo son necesario estudios que permitan valorar la calidad de las aguas donde viven estas especies.

Se han descrito por Rehulka et al. (2015) el aislamiento de *Vibrio cholerae* patógeno no O1/no O139 en truchas (alevines del cardenal tetra, *Paracheirodonaxelrodi* y en el bagre *Raphael* adulto y *Platydorascostatus*) en acuarios y el brote de vibriosis en las poblaciones salvajes comunes (*Chondrostomanusus*; *chub*, *Squaliuscephalus*; *gobio*, *Gobio gobio*; entre otros).¹³ Este estudio fue desarrollado en truchas con síntomas de enfermedad subyacente, donde la temperatura del agua (20°C a 23°C), el contenido

fluctuante de oxígeno y el bajo nivel de agua que contribuyeron a aumentar la concentración de la contaminación fecal del agua. Nuestros resultados difieren de este estudio, debido a que las truchas evaluadas en este estudio estuvieron aparentemente sanas.

En Perú, existen reportes limitados que estimen e identifiquen microorganismos causantes de enfermedad en especies de peces. El estudio de Sierralta et al (2016) identificó la presencia de *Plesiomonas shigelloides* dentro del curso de un proceso entérico en tilapia *Oreochromis niloticus* en una piscigranja de la región Lima.¹² Aunque estos reportes pueden desarrollarse infrecuentemente en población de peces sanos la carga microbiana es pequeña y la identificación de las características típicas bacterianas usualmente se determinan con métodos bioquímicos bacteriológicos. Estos pueden cursar como importantes limitaciones, ya que será más usual y sencillo hacer reportes de microorganismos patógenos en poblaciones de peces o truchas enfermas que en población general. En ese sentido, el analizar bacterias posiblemente patógenas humanas en especies sanas resulta importante por la búsqueda de reservorios de enfermedades que podrían ser transmitidos si no se siguen las medidas de higiene adecuadas.

Las bacterias aisladas, como *Escherichia coli* y *K. pneumoniae* corresponden con importante bacterias patogenicas que pueden ocasionar gastroenteritis, cuadros disentericos hasta complicaciones organicas funcionales, de hecho se han reportado estos agentes patogenicos previamente en diferentes especies de truchas en varias partes del mundo. Por ello es que la determinación de estos

organismos pueden poner en riesgo la salud humana ya que muchas de estas especies son causa frecuente de enfermedad gastrointestinal.^{34,35}

Particularmente las especies de *Aeromonas* que han sido reportadas como especies con amplia cantidad de mecanismos patogénicos pueden ocasionar cuadros patológicos completos. Inclusive estas especies presentan componentes patogénicos que pudieran no solo ocasionar la progresión de la infección, si no que pueden ser importantes mecanismos de resistencia a antibióticos.^{36,37} Estas posibilidades de resistencia antibiótica en especies aisladas de truchas pueden representar importantes factores de riesgo para la salud de las personas productoras y consumidoras de truchas, que se exponen diariamente a estos patógenos.³⁸ Es importante por ello continuar la evaluación de microorganismos es especies de truchas a fin de identificar posibles brotes infecciosos importantes para la salud mental.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

Se concluye que:

- No se determinó la presencia de *Vibrio sp.* en truchas (*Oncorhynchus mykiss* y *Salmo trutta*) provenientes de dos piscigranjas de Huaral, Lima 2020.
- No se detectó *Vibrio sp.* en la cavidad visceral de las truchas (*Oncorhynchus mykiss* y *Salmo trutta*) provenientes de dos piscigranjas de Huaral, Perú 2020.
- No se detectó *Vibrio sp.* en la superficie escamosa de las truchas (*Oncorhynchus mykiss* y *Salmo trutta*) provenientes de dos piscigranjas de Huaral, Perú 2020.
- Se aislaron Enterobacterias como *Aeromonas hydrophyla/caviae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus spp.* en la superficie escamosa y cavidad visceral de las truchas (*Oncorhynchus mykiss* y *Salmo trutta*) provenientes de dos piscigranjas de Huaral, Perú 2020.

4.2. Recomendaciones

Se recomienda que:

- Se desarrollen evaluaciones microbiológicas que incluyan métodos moleculares complementarios a fin de mejorar el desempeño de la evaluación microbiológica.
- Se desarrollen evaluaciones microbiológicas que incluyan parásitos y hongos en truchas provenientes de piscigranja.
- Realizar un control activo microbiológico de especies de truchas en criaderos locales a fin de entender el comportamiento bacteriano.
- Se desarrollen evaluaciones en otras piscigranjas o truchícolas de Lima Provincias, y en diferentes departamentos, ya que es posible que la calidad microbiológica pueda variar entre los entornos de crianza controlada.

REFERENCIAS

1. United Nations. The Sustainable Development Goals Report. New York: United Nations Publications, 2016.
2. Sachs JS. From millennium development goals to sustainable development goals. *Lancet* 2012; 379 (9832): P2206-221.
3. Food and Agriculture Organization. Water, Water, Land and Ecosystems (WLE) Program of the CGIAR, International Water Management Institute (IWMI). Geneva: FAO; 2018.
4. Zúniga-Estrada A1, Tejeda-Trujillo F, Concha-Valdéz F, Heredia-Rojas N. Microbiología sanitaria. *Rev Latinoam Microbiol.* 2006; 48(2):226-30.
5. Cabral JPS. Water Microbiology. Bacterial Pathogens and Water. *Int J Environ Res Public Health* 2010; 7: 3657-3703.
6. Abdelaziz M, Ibrahema MD, Ibrahim MA, Abu-Elala NM, Abdel-moneam DA. Monitoring of different vibrio species affecting marine fishes in Lake Qarun and Gulf of Suez: Phenotypic and molecular characterization. *Egypt J Aquat Res.* 2017; 43(2): 141-146.
7. Senderovich Y, Izhaki I, Halpern M. Fish as Reservoirs and Vectors of *Vibrio cholerae*. *PLoS ONE* 2010; 5(1): e8607.
8. Drakeford B, Pascoe S. Substitutability of fishmeal and fish oil in diets for salmon and trout: a meta-analysis. *J Aquacul Econ Manag.* 2008; 12(3).
9. Adlei A. Analysis of The Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* market in the world and Iran. *J Fisheries.* 2014; 8(2): 81-88.
10. Akayli T, Aydin B, Urku C, Kayalar O. Diagnosis of *Vibrio anguillarum* in Cultured Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) by Different Methods. *Eur J Biol.* 2018; 77(1): 26-31
11. Balta F, Dengiz BZ. Doğu Karadeniz 'deyemiş tiriciliği'na pılangö kkuşağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*)'ndan izole edilen *Vibrio anguillarum* suşlarının serotiplen dirilmesi, genetik karakterizasyon ve antimikrobiyal duyarlılığının belirlenmesi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg,* 2017; 64: 321-328.

12. Sierralta CV, Mayta HE, Quispe JL. Primer Registro de *Plesiomonas shigelloides* como Patógeno Oportunista de *Tilapia Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) en una Piscigranja de Lima, Perú. *Rev Inv Vet Perú* 2016; 27(3): 565-572.
13. Rehulka J, Petras P, Marejkova M, Aldova E. *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 infection in fish in the Czech Republic. *Veter Med.* 2015; 60 (1): 16–22.
14. Dididen BI, Metin S, Çayli O, Ersoy AT. Screening for candidate probiotic bacteria for the control of *vibrio anguillarum* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *J Fish Sci.* 2013; 7(4): 317-322.
15. Avci H, Brincio LS, Cagirgan H. Pathological and immunohistochemical investigations in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) experimentally infected with *Vibrio anguillarum*. *Revue Méd. Vét.*, 2012; 163(1) 31-39.
16. Austin B, Austin D. *Bacterial fish pathogens: disease and farmed and wild fish.* 4th Edition. Chichester: Springer; 2006.
17. Landergren P. Spawning of anadromous rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum): A threat to sea trout, *Salmo trutta* L., populations?. *Fishe Res.* 1999; 40: 55–63.
18. Behnke RJ. *Trout and Salmon of North America.* New York: The Free Press; 2002.
19. Brown JC. *Trout Culture: How Fly Fishing Forever Changed the Rocky Mountain West.* Seattle: University of Washington Press; 2015.
20. Johansen R. *Fiskehelse rapporten 2012, Fish health report 2012.* Oslo: Veterinaerintittuttet; 2013.
21. Toranzo AE, Margarinos B and Romalde JL. A review of main bacterial disease in mariculture systems. *Aquaculture.* 2005; 246: 37-61.
22. Tison DL, Nishibuchi M, Greenwood JD, Seidler RJ. *Vibrio vulnificus* biogroup 2: new biogroup pathogenic for eels. *Appl Environ Microbiol.* 1982; 44: 640-646.

23. Oliver JD. *Vibrio vulnificus*. En *Biology of Vibrios*. Thompson FL, Austin B, Swing J. (Ed) Washington: ASM Press; 2006.
24. Mikkelsen H, Lund V, Larsen R, Seppola M. Vibriosis vaccines based on various serogroups of *Vibrio anguillarum* O2 induce specific protection in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) juveniles. *Fish Selfish Immunol*. 2011; 30: 330-339.
25. Fouz B, Llorens A, Valiente E, Amaro C. A comparative epizootiologic study of the two fish-pathogenic serovars of *Vibrio vulnificus* biotype 2. *J Fish Dis* 2010; 33: 383-390.
26. Biosca EG, Amaro C, Larsen JL, Pedersen K. Phenotypic and genotypic characterization of *Vibrio vulnificus* – proposal for the substitution of the subspecific taxon biotype for serovars. *Appl Environ Microbiol*. 1997; 63: 1460-1466.
27. Sanjuán E, Amaro C. Multiplex PCR assay for detection of *Vibrio vulnificus* biotype 2 and simultaneous discrimination of serovar E strains. *Appl Environ Microbiol*. 2007; 73: 2029-2032.
28. Haenen OLM, van Zanten E, Jansen R, et al. *Vibrio vulnificus* outbreaks in Dutch eel farms since 1996, strain diversity and impact. *Dis Aquatic Org*. 2014; 108: 201-209.
29. Dieckmann R, Strauch E, Alter T. Rapid identification and characterization of *Vibrio* species using whole-cell MALDITOF mass spectrometry. *J Appl Microbiol*. 2010; 109: 199-211.
30. Hernández SR, Fernández CC, Baptista LM. *Metodología de la Investigación*. 6ta Ed. México: Mc Graw Hill; 2018
31. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Selection and application of methods for the detection and enumeration of human-pathogenic halophilic *Vibrio* spp. in seafood. 22 microbiological risk assessment series. Roma: FAO/WHO; 2016.
32. Institute of Laboratory Animal Resources. Office of Animal Care and Use of National Institute of Health. Baltimore: Animal Welfare Commission on Life Sciences, US Department of Agriculture; 2005.

33. Instituto del Mar del Perú. Guía para la incubación y alevinaje de truchas arcoíris. Lima: IMARPE; 2015.
34. Popovic´ TN, Teskeredžić E, Strunjak-Perovic´ I, Čož-Rakovac R. *Aeromonas hydrophila* Isolated from Wild Freshwater Fish in Croatia. *Vet Res Commun* 2000; 24, 371–377.
35. Paniagua C, Rivero O, Anguita J, Naharro G. Pathogenicity factors and virulence for rainbow trout (*Salmo gairdneri*) of motile *Aeromonas* spp. isolated from a river. *J Clin Microbiol.* 1990; 28(2):350-5.
36. Alghabshi A, Austin B, Crumlish M. *Aeromonas salmonicida* isolated from wild and farmed fish and invertebrates in Oman. *Int Aquat Res* 2018; 10: 145–152.
37. Chen F, Sun J, Han Z, Yang X, Xian J-a, Lv A, et al. Isolation, Identification and Characteristics of *Aeromonas veronii* From Diseased Crucian Carp (*Carassius auratus gibelio*). *Front. Microbiol.* 2019; 10: 2742.
38. Moya-Salazar J, Terán-Vásquez A, Salazar-Hernández R. Alta resistencia antimicrobiana a fluoroquinolonas por *Campylobacter* en pacientes pediátricos de un hospital peruano. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2018;35(1):156-8.

ANEXOS

Anexo 1 MATRIZ DE CONSISTENCIA

“AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *Vibrio* sp. EN TRUCHAS (*Oncorhynchus mykiss* y *Salmo trutta*) PROVENIENTES DE DOS PISCIGRANJAS DE HUARAL, PERÚ 2020”

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES	DISEÑO Y MUESTRA
<p>Problema principal: ¿Existe <i>Vibrio</i> sp. en truchas (<i>Oncorhynchus mykiss</i> y <i>Salmo trutta</i>) provenientes de dos piscigranjas de Huaral, Perú 2020?</p> <p>Problemas específicos 1. ¿Existe <i>Vibrio</i> sp. en la cavidad visceral de las truchas (<i>Oncorhynchus mykiss</i> y <i>Salmo trutta</i>) provenientes de dos piscigranjas de Huaral, Perú 2020? 2. ¿Existe <i>Vibrio</i> sp. en la superficie escamosa de las truchas (<i>Oncorhynchus mykiss</i> y <i>Salmo trutta</i>) provenientes de dos piscigranjas de Huaral, Perú 2020?</p>	<p>Objetivo general. Determinar la presencia de <i>Vibrio</i> sp. en truchas (<i>Oncorhynchus mykiss</i> y <i>Salmo trutta</i>) provenientes de dos piscigranjas de Huaral, Lima 2020.</p> <p>Objetivos específicos: 1. Detectar <i>Vibrio</i> sp. en la cavidad visceral de las truchas (<i>Oncorhynchus mykiss</i> y <i>Salmo trutta</i>) provenientes de dos piscigranjas de Huaral, Perú 2020. 2. Detectar <i>Vibrio</i> sp. en la superficie escamosa de las truchas (<i>Oncorhynchus mykiss</i> y <i>Salmo trutta</i>) provenientes de dos piscigranjas de Huaral, Perú 2020.</p>	<p>No amerita hipótesis general</p> <p>No amerita hipótesis específica</p>	<p>V. Dependiente: Aislamiento de <i>Vibrio</i> sp. en truchas</p>	<p>Diseño: Estudio observacional prospectivo de corte transversal.</p> <p>Enfoque: cuantitativo.</p> <p>Tipo de estudio: Aplicado</p> <p>Población La población del objeto de estudio la constituirán truchas de dos piscigranjas de Huaral, Perú analizados durante el 2020.</p> <p>Muestra La muestra estará conformada por 192 muestras de truchas de dos piscigranjas de Huaral, Perú analizados durante el 2020. Se realizaran por cada piscigranja 48 evaluaciones por duplicado</p> <p>Análisis de datos Se realizará en IBM SPSS v21., se utilizará estadística descriptiva para estimar las medidas de tendencia central, así como frecuencias absolutas y relativas.</p>

Anexo 2 –

CONSENTIMIENTO DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO EN TRUCHAS

Mediante el presente documento se le está pidiendo que participe en un estudio de Mediante Este documento se le está solicitando nos permita realizar la investigación titulada Aislamiento e identificación de *Vibrio sp.* en truchas (*Oncorhynchus mykiss* y *Salmo trutta*) provenientes de dos piscigranjas de Huaral, Perú 2020. Su participación es completamente voluntaria; si no desea participar puede informar a los estudiantes encargados del estudio a los asesores del mismo. Lea toda la información que se le ofrece en este documento y haga todas las preguntas que necesite al investigador que se, para una correcta decisión.

1) Objetivo del estudio

Determinar la presencia de *Vibrio sp.* en truchas (*Oncorhynchus mykiss* y *Salmo trutta*) provenientes de tres piscigranjas de Huaral, Lima 2020.

2) ¿Tendré beneficios por participar?

Es probable que Usted no se beneficie directamente con los resultados de esta investigación.

3) ¿Cuánto tiempo durará mi participación el estudio?

El estudio durará cuatro semanas, pero el análisis de las truchas en la piscigranja se realizara dentro de 3 horas en un día.

4) ¿Existen riesgos por participar?

No existen riesgos por participar.

5) ¿Qué gastos tendré si participo del estudio?

No existen costos por participar.

6) ¿Se compartirán mis datos personales?

No se compartirán sus datos personales.

7) ¿Qué harán con mis muestras (tejido/células/sangre)?

Las muestras serán llevadas a Lima, a un laboratorio de microbiología para ser cultivadas por 24 horas en búsqueda de microorganismos (*Vibrio sp.*) de importancia médica que afecten la salud de las truchas.

8) ¿Quién(es) financia(n) la investigación?

Es financiada por los autores del proyecto.

9) ¿Me darán información sobre los resultados del estudio, luego de su finalización?

Si, se le informaran sobre los resultados del estudio.

Declaración y firma:

He leído el presente documento Informado, y declaro haber recibido suficiente información, comprendiendo los objetivos del estudio por lo cual doy mi consentimiento para la realización del muestreo en la psicigranja que gestiono.

Nombre del participante	Firma	Fecha (dd/mm/aaaa)

Anexo 3 –

Mapa De Huaral Con Puntos De Muestreo



Anexo 4 –

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

NUMERO:

Piscigranja: _____

Numero de Evaluación: _____

Trucha

Especie: _____ **SEXO:** F () M ()

***Perfil Microbiológico**

Aislamiento: _____ UFC ()

***Identificación bioquímica**

Compactible con: _____ S% () E%()

Cod. Vitek: _____

Anexo 5 –

IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES

CLINICA INCA

Cliente de bioMérieux:
Equipo N°:

Informe de examen

Editado 17-dic-2020 16:48 CST
Editado por: Labadmin

Nombre del paciente: v parahaemoliticus, 2
Aislamiento: renato-1 (Aprobado)

N° paciente: 2

Tipo de tarjeta: GN Código de barras: 2411250103109831 Prueba de instrumento: 0000139C3D42 (VK2C-1271)
Técnico de preparación: Laboratory Administrator(Labadmin)

Bionúmero: 0625616450400210

Cantidad de organismo: 1 000 000 cfu/mL. Organismo seleccionado: *Aeromonas hydrophila/caviae*

Comentarios:	

Información de identificación	Tarjeta: GN	N° de lote: 2411250103	Fecha caduc.: 29-abr-2021 13:00 CDT
	Finalizado: 12-dic-2020 22:52 CST	Estado: Final	Tiempo de análisis: 4,85 horas
Origen del organismo	VITEK 2		
Organismo seleccionado	97% Probabilidad	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>	
	Bionúmero: 0625616450400210	Nivel de confianza:	Identificación excelente
Organismo SRF			
Organismos de análisis y pruebas a separar:			
<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>			
<i>Aeromonas caviae</i> VP(1),			
<i>Aeromonas hydrophila</i> VP(99),			
Mensajes análisis:			
Perfil(es) típico(s) contraindicante(s)			
<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i> dSOR(14),			

Versión instalada de VITEK 2 Systems: 08.01
Guía de interpretación de CMI:
Nombre de juego de parámetros de AES:

Guía de interpretación terapéutica:
Última modificación de parámetros de AES:

Página 1 de 2

CLINICA INCA

Cliente de bioMérieux:
Equipo N°:

Informe de examen

Editado 17-dic-2020 16:48 CST
Editado por: Labadmin

Nombre del paciente: v parahaemolitics, 2
Aislamiento: renato-1 (Aprobado)

N° paciente: 2

Tipo de tarjeta: GN Código de barras: 2411250103109831 Prueba de instrumento: 0000139C3D42 (VK2C-1271)
Técnico de preparación: Laboratory Administrator(Labadmin)

Bionúmero: 0625616450400210

Cantidad de organismo: 1 000 000 cfu/mL Organismo seleccionado: *Aeromonas hydrophila/caviae*

Detalles bioquímicos

2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	+	9	BGAL	+
10	H2S	-	11	BNAG	+	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	+
17	BGLU	-	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	-	26	LIP	+	27	PLE	+	29	TyrA	-	31	URE	-	32	dSOR	+
33	SAC	+	34	dTAG	-	35	dTRE	+	36	CIT	-	37	MNT	-	39	5KG	-
40	ILATk	-	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	-	48	LDC	-	53	IHISa	-	56	CMT	+	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	(-)	64	ILATa	-			

Acción Nombre (ID de usuario) Fecha/Hora Comentario
Revisado por: (Labadmin) 17-dic-2020 16:48 CST

Versión instalada de VITEK 2 Systems: 08.01
Guía de interpretación de CMI:
Nombre de juego de parámetros de AES:

Guía de interpretación terapéutica:
Última modificación de parámetros de AES:

Anexo 6 –

Evidencia del trabajo de campo





