



## **FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA**

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *Vibrio* spp., A PARTIR DE LAS  
 EXCRETAS DE *Leucophaeus pipixcan* (“gaviota de Franklin”) EN EL  
 HUMEDAL COSTERO “POZA DE LA ARENILLA”, LA PUNTA-CALLAO  
 DURANTE EL EVENTO “EL NIÑO 2024”

**Línea de investigación:  
 Salud pública**

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciada en Biología

### **Autora**

Castro Aparicio, Ruth Yomira

### **Asesora**

Rodrigo Rojas, María Elena  
ORCID: 0000-0002-1555-4036

### **Jurado**

Iannacone Óliver, José Alberto  
Salas Asencios, Ramsés  
Saez Flores, Gloria María

**Lima - Perú**

**2025**



INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="http://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a> Fuente de Internet	11%
2	<a href="http://repositorio.unprg.edu.pe">repositorio.unprg.edu.pe</a> Fuente de Internet	2%
3	<a href="http://www.expertoanimal.com">www.expertoanimal.com</a> Fuente de Internet	1%
4	<a href="http://www.redalyc.org">www.redalyc.org</a> Fuente de Internet	1%
5	<a href="http://repositorio.unfv.edu.pe">repositorio.unfv.edu.pe</a> Fuente de Internet	1%
6	<a href="http://www.tvn-2.com">www.tvn-2.com</a> Fuente de Internet	<1%
7	<a href="http://ri2.bib.udo.edu.ve:8080">ri2.bib.udo.edu.ve:8080</a> Fuente de Internet	<1%
8	<a href="http://www.coursehero.com">www.coursehero.com</a> Fuente de Internet	<1%
9	Submitted to UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA Trabajo del estudiante	<1%
10	Submitted to Universidad San Francisco de Quito Trabajo del estudiante	<1%
11	<a href="http://andina.pe">andina.pe</a> Fuente de Internet	<1%



**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA**

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *Vibrio* spp., A PARTIR DE LAS EXCRETAS DE *Leucophaeus pipixcan* (“gaviota de Franklin”) EN EL HUMEDAL COSTERO “POZA DE LA ARENILLA”, LA PUNTA-CALLAO DURANTE EL EVENTO “EL NIÑO 2024”

**Línea de investigación**

Salud Pública

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciada en Biología

**Autora:**

Castro Aparicio, Ruth Yomira

**Asesora:**

Rodrigo Rojas, María Elena

ORCID: 0000-0002-1555-4036

**Jurado:**

Iannacone Óliver, José Alberto

Salas Asencios, Ramsés

Saez Flores, Gloria María

**Lima – Perú**

**2025**

### **Dedicatoria**

Ante todo, doy gracias a Dios, por su guía y bendiciones. Dedico esta tesis con especial cariño a mis padres, Edith y Roberto, quienes han sido el pilar esencial en mi trayectoria académica y personal. Sobre todo, a mi mamá por su apoyo constante, comprensión y ánimo inquebrantable han sido fundamentales en la construcción de mi carrera. También para mis abuelos y tíos que me aconsejaron en mi camino universitario y personal. Extiendo mi gratitud a mis profesores y mentores por su invaluable orientación, y a mis amigos y seres queridos por su comprensión y apoyo. Esta tesis es un reflejo de todo el amor y apoyo que he recibido de ustedes. Les agradezco de todo corazón por ser mi familia y por hacer de este logro una realidad.

### **Agradecimiento**

A mi asesor externo, el Blgo. Jorge Mariazza, por guiarme en el desarrollo de este trabajo. Su paciencia, confianza y la generosidad al compartir sus conocimientos han sido clave para mi crecimiento profesional y para el éxito de este proyecto.

A mi asesora interna, la Mg. María Elena Rodrigo Rojas, por creer en mi potencial, por su apoyo incondicional y por su persistencia en que yo alcance mis objetivos académicos. La admiro profundamente por su constante lucha por el reconocimiento de las mujeres en la sociedad científica.

Finalmente, a todas las personas que de alguna manera contribuyeron a la realización de esta tesis, les expreso mi más sincero agradecimiento. Este logro es tanto mío como de ustedes.

## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	9
<b>ABSTRACT</b> .....	10
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	11
<b>1.1. Descripción y formulación del problema</b> .....	11
<b>1.2. Antecedentes</b> .....	12
<b>1.3. Objetivos</b> .....	15
<i>1.3.1. Objetivo general</i> .....	15
<i>1.3.2. Objetivos específicos</i> .....	15
<b>1.4. Justificación</b> .....	15
<b>1.5. Hipótesis</b> .....	17
<i>1.5.1. Hipótesis alterna</i> .....	17
<i>1.5.2. Hipótesis nula</i> .....	17
<b>II. MARCO TEÓRICO</b> .....	18
<b>2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación</b> .....	18
<i>2.1.1. Humedales</i> .....	18
<i>2.1.3. Humedal costero “Poza La Arenilla”</i> .....	19
<i>2.1.4. Vibrio spp.</i> .....	20
<i>2.1.5. Sensibilidad y resistencia a antibióticos en bacterias</i> .....	20
<i>2.1.6. Ornitofauna acuática</i> .....	22
<b>III. MÉTODO</b> .....	26

3.1. Tipo de investigación.....	26
3.2. Ámbito temporal y espacial.....	26
3.3. Variables .....	26
3.4. Población y muestra .....	27
3.5. Instrumentos .....	28
3.6. Procedimiento .....	29
3.6.1. Fase de campo .....	29
3.6.2. Análisis de laboratorio .....	31
3.7. Análisis de datos .....	34
3.8. Consideraciones éticas .....	36
IV. RESULTADOS .....	37
V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....	45
VI. CONCLUSIONES.....	56
VII. RECOMENDACIONES .....	57
VIII. REFERENCIAS .....	58
IX. ANEXOS.....	70

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> <i>Datos climáticos de las cinco salidas a campo</i> .....	37
<b>Tabla 2</b> <i>Parámetros acuáticos</i> .....	37
<b>Tabla 3</b> <i>Aislamientos y porcentaje para la identificación de bacterias procedentes de las de excretas de “gaviota de Franklin”</i> .....	38
<b>Tabla 4</b> <i>Aislamientos y porcentaje para la identificación de bacterias procedentes de las excretas de “gaviota de Franklin”</i> .....	39
<b>Tabla 5</b> <i>Aislamientos y porcentaje para la identificación de bacterias procedentes de las excretas de “gaviota de Franklin”</i> .....	39
<b>Tabla 6</b> <i>Aislamientos y porcentaje para la identificación de bacterias procedentes de las excretas de “gaviota de Franklin”</i> .....	40
<b>Tabla 7</b> <i>Frecuencia y porcentaje total de bacterias aisladas de excretas en los cuatro muestreos de <i>Leucophaeus pipixcan</i>, “gaviota de Franklin”</i> .....	41
<b>Tabla 8</b> <i>Resultado de antibiograma de especies patogénicas y/o oportunistas frente a cuatro antibióticos</i> .....	43
<b>Tabla 9</b> <i>Porcentaje (%) del total de pruebas de los cuatro antibióticos en las cepas de <i>Vibrio</i> spp.</i> .....	44
<b>Tabla 10</b> <i>Primer muestreo</i> .....	74
<b>Tabla 11</b> <i>Segundo muestreo</i> .....	76
<b>Tabla 12</b> <i>Tercer muestreo</i> .....	77
<b>Tabla 13</b> <i>Cuarto muestreo</i> .....	79

**INDICE DE FIGURAS**

<b>Figura 1</b> <i>Cuadro de operacionalización de variables</i> .....	26
<b>Figura 2</b> <i>Salida de campo en el humedal “Poza de la Arenilla” – Callao</i> .....	30
<b>Figura 3</b> <i>Medición de los parámetros fisicoquímicos del agua</i> .....	31
<b>Figura 4</b> <i>Referencia para la evaluación de antimicrobianos y sus halos de inhibición (medidos en mm)</i> .....	34
<b>Figura 5</b> <i>Porcentaje de frecuencia de Vibrio spp. aislados de las excretas de Leucophaeus pipixcan, “gaviota de Franklin</i> .....	42
<b>Figura 6</b> <i>Porcentaje de resistencia y sensibilidad de cepas de Vibrio frente a diferentes antibióticos</i> .....	44

## INDICE DE ANEXOS

<b>Anexo A</b> Mapa aéreo y vista parcial del humedal “Poza de la Arenilla”, La Punta. ....	70
<b>Anexo B</b> Fluxograma para el aislamiento e identificación de <i>vibrio</i> spp. En “Poza de la Arenilla”, La Punta-Callao.....	71
<b>Anexo C</b> Fotografías del proceso de identificación de características y pruebas bioquímicas. .....	72
<b>Anexo D</b> Características y pruebas bioquímicas de las cepas aisladas a partir de las heces de la “Gaviota de Franklin” en los cuatro muestreos en campo .....	74

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar la presencia de bacterias a partir de las excretas frescas de *L. pipixcan* (“gaviota de Franklin”) en el humedal costero “Poza de la Arenilla” en La Punta-Callao, durante el evento “El Niño” 2024. **Metodología:** Se colectó 50 muestras de excretas de la gaviota de Franklin; se seleccionó un conjunto de cepas para su caracterización con pruebas bioquímicas, utilizando softwares de apoyo para la identificación. Posteriormente se seleccionaron 17 cepas viables del stock para realizar el antibiograma por el método de Kirby-Bauer. **Resultados:** Se aislaron 95 cepas en total, llegando a evidenciar las bacterias más resaltantes de impacto a la salud pública, esto es *Vibrio* spp. (41%), con el hallazgo de una cepa de *V. cholerae* y seis cepas de *Salmonella* spp. (6%), enfrentándolas a cuatro antibióticos (ciprofloxacino, azitromicina, ampicilina y cefotaxima), obteniendo una resistencia del 54% a la ampicilina en las cepas de *Vibrio* spp., principal motivo de nuestro interés. **Conclusiones:** Las aves migratorias son portadores de bacterias patógenas, convirtiéndose en vectores de enfermedades gastrointestinales a los humanos y animales, y pueden de algún modo perpetuar la presencia de la bacteria productora de la enfermedad del cólera.

*Palabras clave:* *Vibrio* spp., *V. cholerae*, *L. pipixcan*, gaviota de Franklin, humedal costero, aves migratorias, antibiograma.

## ABSTRACT

**Objective:** Determine the presence of bacteria from the fresh excreta of *L. pipixcan* (“Franklin's gull”) in the coastal wetland “Poza de la Arenilla” in La Punta-Callao, during the “El Niño” 2024 event. **Methodology:** Fifty samples of Franklin's gull excreta were collected; A set of strains was selected for characterization with biochemical tests, using support software for identification. Subsequently, 17 viable strains were selected from the stock to perform the antibiogram using the Kirby-Bauer method. **Results:** A total of 95 strains were isolated, revealing the most notable bacteria with an impact on public health, that is, *Vibrio* spp. (41%), with the discovery of one strain of *V. cholerae* and six strains of *Salmonella* spp. (6%), confronting them with four antibiotics (ciprofloxacin, azithromycin, ampicillin and cefotaxime), obtaining a resistance of 54% to ampicillin in the strains of *Vibrio* spp., the main reason for our interest. **Conclusions:** Migratory birds are carriers of pathogenic bacteria, becoming vectors of gastrointestinal diseases to humans and animals, and they can in some way perpetuate the presence of the bacteria that produces the cholera disease.

*Keywords:* *Vibrio* spp., *V. cholerae*, *L. pipixcan*, Franklin's gull, coastal wetland, migratory birds, antibiogram.

## I. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Descripción y formulación del problema

Existen razones que respaldan las hipótesis de que las aves migratorias podrían ser las causantes de la introducción y propagación de microorganismos patógenos entre distintos continentes. Se les considera hospedadores introductores, ya que se cree que transportan los microorganismos a nuevos vectores y anfitriones en lugares separados por miles de kilómetros de distancia (Rappole y Hubálek, 2003).

Los estudios de Ogg et al. (1989) en Estados Unidos y las posteriores investigaciones ligadas a la presencia de microorganismos patógenos y oportunistas en las excretas de ornitofauna acuática residente y migratoria, prueban que diversas aves pueden portar *Vibrio* spp. y otras bacterias peligrosas (Halpern et al., 2008; Rodríguez et al., 2010; Gogu-Bogdan et al., 2014; Fernández-Delgado et al., 2016; Laviad-Shitrit et al., 2017; Fu et al., 2019, Mariazza et al., 2019; Mariazza y Ríos, 2020). Además, la resistencia a los antimicrobianos (RAM) es una importante crisis de salud a nivel mundial. Las aves migratorias podrían ser una fuente potencial de bacterias resistentes a los antibióticos (BRA).

Después de la revisión de las investigaciones mencionadas, el estudio de campo, y las acciones experimentales necesarias, se hace necesario identificar la posible presencia de bacterias patógenas para el ser humano dentro de las aves acuáticas que residen permanente y parcialmente en el humedal costero “Poza de la Arenilla” (Santa Cruz, 2023), y dentro de

éstas, a *Leucophaeus pipixcan* “gaviota de Franklin”, delimitando el estudio a dicho ecosistema y desarrollándolo en época de verano.

Tras el hallazgo de *Vibrio* spp. se conocerá parte del microbioma patógeno y oportunista intestinal de dichas aves, la resistencia ante los antimicrobianos, y se podrá alertar a los usuarios sobre la presencia de patógenos transmisibles en este ecosistema, además de extender las investigaciones a otros biotopos marinos semejantes y la vigilancia de RAM para

minimizar el riesgo potencial de contaminación del medio ambiente con BRA, así como para reducir sus impactos peligrosos sobre la salud.

## 1.2. Antecedentes

En el humedal artificial costero “Poza de la Arenilla”, La Punta-Callao (12°04’S, 77°09’W) se ha publicado un solo estudio sobre el posible rol de la ornitofauna en la transmisión de bacterias patógenas a corta o gran distancia (llámense enterobacterias, vibrios u otros microorganismos marinos oportunistas, tales como *Shewanella algae* o *S. putrefaciens*), capaces de afectar la salud humana (Gonzáles et al., 2022). En otros ecosistemas del mundo se le ha conferido mayor importancia a la ornitofauna residente y migratoria de los acuíferos, lo que ha dado como resultado el hallazgo de *Vibrio cholerae* y otras vibrionáceas en apostaderos litorales (Gonzáles et al., 2022).

Las investigaciones pioneras de Ogg et al. (1989) dieron como resultado el aislamiento e identificación de *V. cholerae* aislado a partir de la materia fecal e hisopados cloacales de aves acuáticas en Utah y Colorado: estos investigadores aislaron *V. cholerae* O1 serotipo Ogawa en la garza azul *Ardea herodias*, y en *Larus (Leucophaeus) delawarensis*, al lado de otros serovares de *V. cholerae* non-01, procedentes de otros especímenes. Una observación importante estuvo referida a que las bacterias fueron halladas también en los nidos, hecho que pone de manifiesto que la contaminación puede llevarse a cabo desde tempranas edades y en fase de polluelos.

Mariazza et al. (2006), registró por primera vez el hallazgo de *V. cholerae* en excretas de aves acuáticas apostadas en la bocana del río Lurín (~Km 29 Antigua Panamericana Sur) en época invernal y sostuvo que serían necesarios más estudios.

Halpern et al., 2008; Rodríguez et al., 2010; Gogu-Bogdan et al., 2014; Fernández-Delgado et al., 2016; Laviad-Shitrit et al., 2017; Fu et al., 2019; Mariazza et al., 2019 y recientemente, Mariazza y Ríos (2020), han realizado esfuerzos por determinar la presencia de bacterias en aves acuáticas e incriminarlas en su dispersión a través del mundo, merced a su

vuelo a corta y gran distancia, introduciendo patógenos y microorganismos oportunistas desde áreas endémicas hasta regiones libres de enfermedades o brotes epidémicos. Los últimos autores peruanos, determinaron la presencia de *Shewanella algae*, un bacilo gramnegativo no fermentador emergente de gran peligro probado y potencial, en las excretas de la garcita azul *Egretta caerulea*, apostada en solitario en playa “El Chaco”, Paracas. La cepa hallada fue sometida a pruebas de espectrometría de masa y antibiograma (MALDI-TOF) y se corroboró la especie, además de demostrar su gran sensibilidad a la vasta mayoría de antibacterianos contra los que se probó (Cavenago, tesis en preparación). Esta bacteria, en otras partes del mundo, ha sido capaz de producir enfermedades graves en individuos que contactaron el bacilo en el agua de mar (Mariazza y Ríos, 2020). Los autores sugirieron continuar con las investigaciones en otros apostaderos litorales de la costa de nuestro país, haciendo hincapié que no observaron *L. pipixcan* en la zona tidal donde realizaron el levantamiento de las excretas de la garza. La escasez de especímenes en ciertas épocas del año genera limitaciones en la colección de pellets fecales, en concordancia con los itinerarios migratorios que también contribuyen a la escasa presencia de especímenes de otras especies.

La “gaviota de Franklin” se apostada cada verano en el humedal costero “Poza de la Arenilla”: el itinerario migratorio de *L. pipixcan* (desde hasta un millón de individuos) involucra rutas desde Canadá, México, Estados Unidos, donde mora en los humedales de Baja California, y Centroamérica, para dirigirse al Perú y Chile (tierra del fuego), para retornar hacia el hemisferio norte. Esta ave afronta 8,000 Km de vuelo y es totalmente probable que esta especie pueda transportar las bacterias contenidas en sus intestinos hacia múltiples zonas costeras, que incluso, puedan hallarse libres de patógenos causantes de epidemias (González et al., 2022). Recordemos que se le incriminó en la llegada al Perú del virus de la gripe aviar, que produjo el deceso masivo de pelícanos, guanayes y cormoranes, no afectando su especie. Muchas de estas aves son importantes eslabones dentro de la cadena trófica de los ecosistemas

fluviales y marinos y causan estragos en las aves de corral cuando se genera contagio (Actualidad Ambiental).

En general, se desconoce qué clase de microbiota constituye el sistema digestivo de las aves de orilla; sin embargo, los escasos trabajos existentes revelan cada día el microbioma intestinal de la ornitofauna acuática, y es preciso conocer su biología y rol epidemiológico en la transmisión de enfermedades humanas. En el trabajo de tesis de Santa Cruz (2023), la investigadora logró aislar 8,7% de cepas pertenecientes a *Vibrio* (no-cólera) de 103 cepas evaluadas en dos especies de aves muestreadas en el humedal “Poza de la Arenilla”, pero en su mayoría, registró Enterobacteriaceae, identificando a *Larus (Leucophaeus) belcheri* (“gaviota peruana”), como el ave con mayor incidencia de patógenos microbianos. Santa Cruz (2023) insistió en que los estudios se deben profundizar.

El evento “El Niño” ha producido – en su momento -, aumento de casos de cólera, especialmente en Ecuador y Perú, pues se sabe que la elevación de la temperatura del agua favorece la proliferación del fitoplancton, los crustáceos de origen marino y otros reservorios de vibrios (Sánchez y Pérez, 2014). Las condiciones que se presentarán en la temporada de verano de 2024, podrían resultar favorables para el hallazgo de *Vibrio* spp. como planteamos en parte de nuestros objetivos. Además, se desconoce la sensibilidad/resistencia de especies patógenas de vibrios procedentes de reservorios acuáticos ornitológicos.

### 1.3. Objetivos

#### 1.3.1. Objetivo general

- Determinar la presencia de bacterias a partir de las excretas frescas de *Leucophaeus pipixcan* (“gaviota de Franklin”) en el humedal costero “Poza de la Arenilla” en La Punta-Callao, durante el evento “El Niño” 2024.

#### 1.3.2. Objetivos específicos

- Aislar e identificar bacterias patógenas y oportunistas de la familia Vibrionaceae, en particular, *Vibrio* spp.

- Determinar la sensibilidad/resistencia antimicrobiana de las especies patógenas: *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* y *V. vulnificus*, u otras, de ser halladas, así como la de enteropatógenos.

### 1.4. Justificación

La presente investigación tiene como objetivos particulares la determinación de bacterias patógenas y oportunistas de la familia Vibrionaceae en las excretas frescas de *Leucophaeus pipixcan* (“gaviota de Franklin”), durante el evento “El Niño 2024” y establecer sus patrones de resistencia y susceptibilidad antimicrobiana. Esta ave no solo podría participar como reservorio, sino como vector y diseminador de bacterias peligrosas para la salud humana. Pese a que se cuenta con censos bastante completos sobre la biodiversidad, abundancia, hábitos migratorios y reproductivos de esta y otras especies, no se han realizado investigaciones sistemáticas que involucren a *L. pipixcan* como portadora de patógenos (Podestá y Cotillo, 2016; Podestá et al., 2017; Cotillo et al., 2018; Podestá y Barona, 2021).

El humedal “Poza de la Arenilla” se caracteriza por ser no solo un balneario muy concurrido, sino que también sustenta labores de pesca que sirve de recurso alimentario para muchos de sus pobladores.

Las especies del género *Vibrio* producen desde intoxicaciones de carácter alimentario, pasando por infecciones de heridas por contacto con agua contaminada, hasta epidemias como la que atravesó nuestro país en el verano de 1991 y años subsiguientes (Mariazza y Huamanchumo, 2020). Los especímenes de la gaviota en investigación suelen apostarse poco a poco en abundante cantidad en el humedal artificial e involucrarse directamente en la cadena trófica de este ecosistema. Sus hábitos migratorios residentes y locales, pueden permitirles portar y diseminar bacterias patógenas (incluidas la vibrionáceas) resistentes a los antibióticos, desde lugares cuya endemidad se desconoce hasta refugios y acuíferos libres de microorganismos patógenos y potencialmente oportunistas; esto hace que lo expuesto tenga importancia tanto para la salud humana como veterinaria (Islam et al., 2021). Durante el brote mundial del virus de la influenza aviar, los biólogos se dieron cuenta de la propagación de microorganismos patógenos. Entonces las aves migratorias pueden entrelazarse con las aves nativas, entrar en contacto con alimentos de diferentes entornos y, en última instancia, recoger bacterias resistentes de esos ambientes (Hatha et al., 2013). De esta manera, pueden ser reservorios y esparcidores de bacterias resistentes a los antimicrobianos en ambientes acuáticos, como, humedales, lagos, estanques y ríos, etc, a través de sus contaminaciones fecales (Rashid et al., 2015; Islam et al., 2021).

Asimismo, el evento “El Niño” favorece en gran medida el bloom de fitoplancton, debido al aumento de la temperatura del océano, y esto a su vez, incrementa la reproducción de los microorganismos en aguas superficiales. Por esta razón se ha elegido realizar la colecta de excretas de gaviotas en febrero-abril de 2024, dada la inminencia del fenómeno.

Lo mencionado nos motiva a realizar el presente proyecto de investigación, que debería instar a biólogos, veterinarios y conservacionistas a dedicarse con profundidad a estudiar tanto la ornitopatología, como a determinar el rol potencial de las aves acuáticas en nuestro medio.

## **1.5. Hipótesis**

### ***1.5.1. Hipótesis alterna***

Si se logra aislar e identificar *Vibrio* spp. en las deyecciones de *Leucophaeus pipixcan*, entonces podremos implicarlas en su rol como reservorio y fuente de transmisión para dichos microorganismos patógenos y oportunistas, en el humedal “Poza de la Arenilla”.

### ***1.5.2. Hipótesis nula***

Si no se logra aislar e identificar *Vibrio* spp. en las deyecciones de *Leucophaeus pipixcan*, entonces no podremos implicarlas en su rol como reservorio y fuente de transmisión para dichos microorganismos patógenos y oportunistas, en el humedal “Poza de la Arenilla”.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación

#### 2.1.1. *Humedales*

Los humedales se encuentran entre los ecosistemas más productivos del planeta y cumplen funciones ecológicas esenciales para los humanos, como regular los ciclos hidrológicos y proporcionar recursos de los que dependen las comunidades locales cercanas (Blanco, 1999). Actualmente existen más de 50 definiciones diferentes para el término «Humedales», siendo la de la Convención Ramsar una de las más amplias y adecuadas para fines de conservación y manejo (Blanco, 1999). La Convención de Ramsar sobre los Humedales es un tratado internacional sobre la protección y el uso racional de los humedales, adoptado el 2 de febrero de 1971, en la ciudad iraní del mismo nombre (de ahí su denominación). Su sede administrativa se encuentra en Suiza. A la convención asisten 119 países, incluido Perú. La Convención de Ramsar define estos ambientes como: "zonas de marismas, pantanos y turberas, naturales o artificiales, o zonas de aguas superficiales, ya sean permanentes o temporales, estancadas o corrientes, dulces, salinas o salobres, incluidas "las aguas cuya profundidad en marea baja no alcance a exceder los seis metros" (Convención de Ramsar, 2016).

#### 2.1.2. *Valoración de los humedales en el Perú*

Los humedales en Perú son importantes y vulnerables, pero no han sido reconocidos adecuadamente por los órganos gubernamentales correspondientes. Por lo tanto, no se ha puesto el énfasis necesario para su conservación. Además, las políticas públicas de conservación son deficientes y la falta de conciencia ambiental por parte de la población promueve su deterioro. La Fundación Peruana para la Conservación de la Naturaleza (Pronaturaleza, 2010) menciona las destacadas funciones que cumplen los humedales, como almacenar nutrientes, regular el clima de la zona, retener los excesos de agua, actuar como

hábitat de especies amenazadas o en peligro de extinción, funcionar como soporte de los núcleos urbanos, zonas turísticas y de las áreas industriales, e incrementar la calidad paisajística y con ello las posibilidades de oferta turística. Sobre la base de lo expuesto, la protección, conservación y restauración de los humedales es de suma importancia. Los humedales son ecosistemas que cuentan con una gran diversidad biológica, actuando de manera esencial en el ciclo biológico de innumerables especies vegetales y animales. Es importante tener en cuenta que los humedales se encuentran en todo el mundo desde la tundra hasta el trópico, ocupando aproximadamente 570 millones de hectáreas, lo que representa un 6% del planeta (Convención de Ramsar, 2016).

### ***2.1.3. Humedal costero “Poza La Arenilla”***

El Humedal Costero Poza de la Arenilla (HCPA) es un reservorio costero artificial que se encuentra en La Punta, Callao, Perú. Tiene una extensión de alrededor de 18.2 hectáreas y se originó hace 55 años debido a la construcción de dos muelles que obstruyeron el paso del agua parcialmente posada. Actualmente, es utilizado por los visitantes como zona de recreación y para promover el turismo ecológico y la actividad física. (Merizalde, 2020; Podestá y Cotillo, 2016; Troll, 2000; Cotillo, et al., 2018).

Desde su construcción, el HCPA ha albergado una gran cantidad de especies marinas. Además, el bajo tránsito de agua ha originado un persistente hacinamiento de materia orgánica terrenal y constituyente de seres vivos, lo que ha permitido que el ecosistema alcance los atributos representativos de un humedal convencional. En 1999, el HCPA fue designado como “Zona Reservada de Protección Municipal” con el objetivo de prevenir la pesca excesiva que pueda causar daños y proteger la diversidad de aves migratorias que este espacio recibe constantemente. Actualmente, el HCPA es considerado uno de los refugios de especímenes aviares más importantes del país, habiendo recibido hasta 94 especies de aves, incluyendo especies migratorias de América del Norte, principalmente de Estados Unidos y Canadá

(Carazas et al., 2015; Podestá y Cotillo, 2016; Troll, 2000; Velazco y Solís, 2013; El Peruano, 1999).

#### **2.1.4. *Vibrio* spp.**

Los *vibrios* son bacilos gramnegativos curvados a modo de coma, pertenecen a la familia Vibrionaceae, suelen ser extremadamente mótils, a través de un único flagelo polar. *Vibrio* agrupa especies no formadoras de esporas, oxidasas positivas, capaces de desarrollarse en condiciones aeróbicas y anaeróbicas. La especie tipo es *V. cholerae*, el agente epidémico-pandémico del cólera. Otras especies causan diarrea, infecciones a nivel de heridas y, en ocasiones, cuadros graves de sepsis (Ryan y Ray, 2014). Un ejemplo importante de especies peligrosas para el hombre incluye a *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus*; el género *Vibrio* comprende además un amplio grupo de bacterias marinas heterótrofas que incluyen muchas cepas simbióticas y patógenas facultativas, que en conjunto son responsables de la mayoría de los casos mortales de intoxicación por mariscos (Thompson et al., 2004). De acuerdo con las citas de la misma fuente, las infecciones por *Vibrio* no se limitan a los humanos, como lo resaltaron recientemente informes sobre especies de *Vibrio* capaces de matar el tejido de coral, y estas bacterias representan una fuente importante de preocupación en las instalaciones de acuicultura y acuarios marinos. Debido a que todos estos patógenos parecen mantener poblaciones planctónicas, existe un interés considerable en comprender la prevalencia y la dinámica de poblaciones específicas de *Vibrio* en el medio ambiente. Pueden, además, emplear reservorios acuáticos marinos para contribuir eficazmente a su supervivencia (Mariazza, 2023).

#### **2.1.5. Sensibilidad y resistencia a antibióticos en bacterias**

La resistencia bacteriana se refiere a la capacidad natural o adquirida de una bacteria para resistir los efectos bactericidas o bacteriostáticos de un fármaco antibiótico. Mota (1996) definió este término. Para evaluar la sensibilidad de una bacteria frente a un antibiótico, se inocula una bacteria en un medio de cultivo que contenga uno o más antibióticos y se determina

la sensibilidad como la inhibición de su crecimiento. Las placas de fármacos se utilizan para evaluar la sensibilidad (Greca, 2003).

La determinación de la sensibilidad a los antibióticos se realiza mediante métodos estandarizados, como los establecidos por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), que proporciona criterios para interpretar los resultados de las pruebas de sensibilidad basadas en el diámetro del halo de inhibición (CLSI, 2010).

**Penicilinas:** Ampicilina es un antibiótico de amplio espectro del grupo de las penicilinas, utilizado frecuentemente en infecciones por *Salmonella* spp. y algunas cepas de *Vibrio* spp. Actúa inhibiendo la síntesis de la pared celular bacteriana. Según el CLSI, un diámetro de halo de inhibición de  $\geq 17$  mm se clasifica como sensible (CLSI, 2010). Sin embargo, la aparición de  $\beta$ -lactamasas ha llevado a una resistencia significativa a este antibiótico en patógenos entéricos (Livermore, 2003).

**Quinolonas:** Ciprofloxacino pertenece al grupo de las quinolonas, antibióticos que inhiben la ADN girasa y la topoisomerasa IV, enzimas esenciales para la replicación y reparación del ADN bacteriano. Es altamente efectivo en el tratamiento de infecciones entéricas graves, como las causadas por *Salmonella* spp. y *Vibrio* spp. Según los criterios del CLSI, un diámetro de halo de inhibición de  $\geq 21$  mm indica sensibilidad, lo que sugiere una alta eficacia terapéutica (CLSI, 2010). No obstante, la resistencia ha emergido debido al uso indiscriminado de este antibiótico (Martínez-Martínez et al., 2006).

**Macrólidos:** Azitromicina, un macrólido, es ampliamente utilizada en infecciones gastrointestinales debido a su capacidad para inhibir la síntesis de proteínas bacterianas al unirse a la subunidad ribosomal 50S. Este antibiótico es particularmente eficaz contra *Vibrio* spp. Las directrices del CLSI establecen que un halo de inhibición de  $\geq 13$  mm indica sensibilidad (CLSI, 2010). La azitromicina es preferida en el tratamiento de diarreas

bacterianas debido a su buena penetración tisular y vida media prolongada, lo que permite un régimen de dosificación más corto (Zhanel et al., 2001).

**Cefalosporinas:** Cefotaxima es una cefalosporina de tercera generación con actividad frente a bacterias gramnegativas, incluyendo *Salmonella* spp. y *Vibrio* spp. Inhibe la síntesis de la pared celular bacteriana, similar a las penicilinas, pero es más resistente a las  $\beta$ -lactamasas. Según el CLSI, un halo de inhibición de  $\geq 26$  mm indica sensibilidad (CLSI, 2010). La cefotaxima es utilizada en infecciones severas debido a su amplio espectro y mayor estabilidad frente a enzimas bacterianas (Paterson y Bonomo, 2005).

Los criterios del CLSI proporcionan una guía crucial para la selección de terapias antimicrobianas adecuadas, contribuyendo a mejorar los resultados clínicos y a frenar la propagación de la resistencia antimicrobiana.

#### **2.1.6. Ornitofauna acuática**

Las aves acuáticas conforman uno de los componentes más llamativos y carismáticos de la fauna que habita los humedales. Poseen una plasticidad más elevada que otros animales, por ejemplo, los peces, sin embargo, algunas especies no exhiben adaptaciones al medio acuático y utilizan estos ambientes durante una o varias estaciones del año para pasar una parte de su ciclo biológico, para nidificar y criar, o para cambiar el plumaje (Thomann, 2020).

La avifauna que habita comúnmente el humedal “Poza de la Arenilla”, está compuesta por una amplia cantidad de aves playeras y pescadoras, avistadas en diferentes épocas del año (Santa Cruz, 2023). Sobre la base de los diversos estudios realizados entre el 2012 y 2016 sobre la riqueza de aves del ecosistema, se registraron casi un centenar de especies entre migrantes y residentes (Podestá y Cotillo, 2016; Podestá, et al., 2017; Cotillo, et al., 2018, Podestá y Barona, 2021). Dentro de las especies que llaman la atención casi inmediatamente al visitante, se encuentran los “patillos o cormoranes”, los “pelícanos” y la “gaviota de Franklin”, ésta última, motivó de la presente investigación.

Esta especie (*Larus [Leucophaeus] pipixcan*, Wagler 1831) posee un tamaño ~37 cm. El plumaje básico es blanco por debajo y gris en el dorso. Tiene la frente y la garganta blancas y el resto de la cabeza, negruzca, como plumaje alternativo. El pico y las patas son de color negro o rojo. La zona pectoral y ventral tiene un tono rosado que varía de individuo a individuo. Los juveniles tienen manchas de color marrón oscuro en la espalda y la cabeza y una raya negra en la cola. Se parece a *L. atricilla* ("gaviota reidora"), pero se caracteriza por un pico más corto y delgado y patrones en blanco y negro en las puntas de las plumas de vuelo primarias (Schulenberg et al., 2010).

#### **2.1.6.1. Aves migratorias y su rol en la diseminación de bacterias patógenas**

Claramente, las aves han desempeñado un papel importante en la propagación de microorganismos bacterianos que afectan a los seres humanos. Chung et al. (2018) sugieren que esto se debe a varios rasgos clave de las aves. En primer lugar, las aves tienen una distribución global, ya que pueden migrar largas distancias, colonizar nuevas áreas y resistir una variedad de entornos (Altizer et al., 2011). En segundo lugar, las aves son especies prominentes en los hábitats dominados por humanos, como los entornos urbanos y agrícolas, lo que facilita la transmisión de enfermedades zoonóticas (Atterby et al., 2016).

Las aves y los humanos albergan algunas de las mismas especies de bacterias, muchas de las cuales son patógenas. Aunque la evidencia de la transmisión bacteriana directa de las aves a los humanos es limitada, varias especies de aves han transmitido indirectamente al menos 12 géneros de bacterias patógenas a través del agua contaminada. Las garrapatas y las heces que provocan diarrea, salmonelosis, enfermedad de Lyme y otras enfermedades en humanos (Chung et al., 2018). Por último, tanto las aves agrícolas domésticas como las silvestres pueden contaminar los espacios compartidos y causar infecciones humanas (Bonnedahl y Järhult, 2014; Vincent et al., 2010). Por lo tanto, las enfermedades transmitidas

por aves son una amenaza no solo para las aves, sino también para la salud humana (Literak et al., 2010).

### **2.1.7. Evento “El Niño” en el Perú**

El Fenómeno El Niño (FEN) es un evento climático que se caracteriza por el calentamiento anómalo de las aguas superficiales del océano Pacífico ecuatorial, generando cambios en los patrones climáticos globales (Servicio de Meteorología e Hidrología [SENAMHI], 2014). Este fenómeno forma parte del ciclo El Niño-Oscilación del Sur (ENOS), el cual tiene dos fases: una cálida, conocida como El Niño, y una fría, denominada La Niña (Ministerio del Ambiente [MINAM], s.f.).

En el caso del Perú, la ocurrencia de El Niño tiene un impacto significativo debido a su influencia directa en la costa del Pacífico. Uno de los efectos más notorios es el incremento de las precipitaciones, especialmente en la costa norte, lo que provoca inundaciones, deslizamientos de tierra y afectaciones a la infraestructura y la agricultura (SENAMHI, 2014). En los eventos históricos de El Niño de 1982-1983, 1997-1998 y 2017, las lluvias extremas ocasionaron grandes pérdidas económicas y humanas en el país (Agencia Andina, 2023).

Otro impacto importante se observa en la actividad pesquera, ya que el calentamiento del mar genera la migración de especies como la anchoveta (*Engraulis ringens*), un recurso clave para la economía peruana (MINAM, s.f.). Este cambio en la disponibilidad de recursos pesqueros afecta tanto la industria pesquera como la seguridad alimentaria de las poblaciones costeras.

Sin embargo, no todos los efectos de El Niño son negativos. En ciertas regiones, el aumento de las lluvias favorece la agricultura, especialmente en cultivos como el arroz y el maíz, además de permitir la regeneración de ecosistemas áridos, como los bosques secos del norte del país (Agencia Andina, 2023).

Dada la recurrencia de El Niño, es crucial fortalecer los sistemas de monitoreo y prevención, con el fin de mitigar sus impactos y adaptar las actividades económicas y sociales a los cambios climáticos que conlleva (SENAMHI, 2014).

### III. MÉTODO

#### 3.1. Tipo de investigación

La presente investigación es de tipo aplicada porque tuvo como objetivo emplear los resultados de la investigación científica para mejorar la calidad de vida de la población, así como solucionar y prevenir problemas específicos de la sociedad (en este caso, ligados a la salud). El trabajo está basado en un diseño de tipo exploratorio porque es un tipo de investigación que se utilizó para estudiar problemas poco conocidos o estudiados, con el fin de obtener una comprensión general y orientar investigaciones posteriores.

#### 3.2. Ámbito temporal y espacial

**Ámbito temporal.** La investigación se realizó entre los meses de febrero y abril de 2024, mediante un muestreo de tipo aleatorio simple de las excretas de la gaviota de Franklin.

**Ámbito espacial.** El área elegida para la colecta de muestras correspondió a la zona de arenilla del humedal artificial costero “Poza de la Arenilla”, en el distrito de La Punta-Provincia Constitucional del Callao (12°04’S, 77°09’W).

#### 3.3. Variables

- Variable dependiente: *Vibrio* spp.
- Variable independiente: Aves acuáticas
- Variable dependiente: Susceptibilidad y resistencia antimicrobiana.

#### Figura 1

*Cuadro de operacionalización de variables*

Objetivos	Unidades de estudio	VARIABLES	Indicadores	Instrumentos	Categorización de las variables
-----------	---------------------	-----------	-------------	--------------	---------------------------------

Aislar e identificar <i>Vibrio</i> spp. a partir de las excretas frescas de <i>Leucophaeus pipixcan</i> en el humedal costero “Poza de la Arenilla” durante el evento “El Niño 2024”	<i>Vibrio</i> spp.	Presencia e identificación de las unidades de estudio en las deposiciones frescas de las aves acuáticas muestreadas	Medios de cultivo y pruebas morfológicas, fisiológicas, identificatorias y softwares de apoyo diagnóstico	Dependiente	
Determinar la sensibilidad antimicrobiana de las cepas patógenas	Bacterias	Aves acuáticas migratorias	Características taxonómicas distintivas	Guías ornitológicas especializadas, binoculares y cámara fotográfica	Independiente
Determinar la sensibilidad antimicrobiana de las cepas patógenas	Sensibilidad y resistencia microbiana	Sensible o Resistente	Discos de sensibilidad (antibiograma)	Independiente	

### 3.4. Población y muestra

**Población:** La población correspondió a todos los ejemplares de *L. pipixcan* apostados en el humedal la “Poza de la Arenilla”, La Punta – Callo, un aproximado de 60 aves y microorganismos aislados de sus heces.

**Muestra:** Para la muestra se consideró 52 aves y de ellas se recolectaron 50 muestras de heces a través de un muestreo aleatorio simple, entre las 5 salidas campo, los mismos que se registraron en una base de datos.

**Cálculo de la muestra para poblaciones finitas,** con este cálculo estadístico el número de aves que han sido objetivo para extraer el número de muestras de heces se usó la siguiente fórmula:

$$n = \frac{N \cdot Z^2(p \cdot q)}{E^2(N - 1) + Z^2(p \cdot q)}$$

$n$  = muestra

$N$  = población (60)

$Z$  = nivel de confianza (95% = 1,96)

$p$  = probabilidad de éxito (0,5)

$q$  = probabilidad de fracaso (0,5)

$E$  = error estándar (0,05)

$$n = \frac{60 \cdot (1,96)^2 (0,5 \cdot 0,5)}{0,05^2 (60 - 1) + 1,96^2 (0,5 \cdot 0,5)}$$

Tamaño de la muestra:  $n = 52,0 \approx 52$  aves

#### **Criterios de inclusión:**

- Heces frescas de *L. pipixcan*.
- Heces que no se encuentren contaminadas con algún residuo sólido o agua.

#### **Criterios de exclusión:**

- Heces secas de *L. pipixcan*.
- Heces que no pertenezcan a *L. pipixcan*.

### **3.5. Instrumentos**

***Program Online Identification of bacteria-Microrao (OIBM)***, este software se empleó como principal herramienta de apoyo para la identificación bacteriana. Posee un completo banco de datos respecto de las cepas correspondiente a las especies del género *Vibrio* y nos provee de probabilidades porcentuales de aislamiento.

***Programa ABIS online***, se empleó como segunda herramienta auxiliar de apoyo para la determinación de especies, subespecies y biovares (de acuerdo con Sorescu y Stoica, 2021). El programa cuenta con la ABIS Encyclopedia (como base de consulta taxonómica, bioquímica y ecológica). El software estableció el porcentaje de similitud y probabilidad porcentual, así como reacciones congruentes, esperadas, incluso las opuestas.

**Gráficos**, tablas descriptivas y figuras que se usaron como herramientas para poder analizar datos para presentarlos manera visual y sistematizada.

### **3.6. Procedimiento**

#### **3.6.1. Fase de campo**

**3.6.1.1. Fase de identificación de aves.** Se procedió a la identificación de *Leucophaeus pipixcan*, con la finalidad de relacionar espécimen-excreta, aunque suele ser relativamente sencillo diferenciarla de las aves que se apostan en la arenilla. Para esto, se contó con el apoyo de las siguientes guías de campo respecto de las aves acuáticas moradoras de nuestro litoral, considerando individuos de otras especies que suelen morar en el ecosistema: Schulenberg et al. (2010), Barrio y Guillén (2014) y el catálogo de aves costeras del humedal “Poza de la Arenilla”, Callao (Podestá, 2018), que gentilmente fue proporcionado por Alexander Vínces, un pescador con vasta experiencia en el ecosistema. También se emplearon binoculares Bushnell Ensign (de ser preciso), una cámara Sony Alfa 5100 lente SEL55210 y teléfonos celulares de buena resolución para el registro fotográfico.

**3.6.1.2. Fase de muestreo.** En horas matinales se procedió a localizar la ubicación y el levantamiento de una porción de heces frescas de cada espécimen de *L. pipixcan* apostados en la arenilla del humedal, que no tomen contacto con agua u otro material, mediante el hisopo contenido en el medio de transporte de Amies o Cary Blair estéril, donde fueron conducidas con prontitud al laboratorio, previa codificación, consignando algunas características particulares (contenido algal, quitinoso o con evidencias de ingestión de krill), fecha y hora de la colecta. La población elegida corresponde a N = 50. Todas las muestras fueron colocadas en un cooler con hielo (Gelpack/Andina Médica) para conservar la cadena de frío (2-8°C).

El muestreo se dividió en cinco (05) salidas de campo, entre los meses de febrero a abril de 2024. Fue necesario el uso de un bote para llegar del puerto del humedal hacia la zona de

muestreo propiamente dicha, para ello, se contó con el apoyo de un pescador de la zona (figura 2). También fueron determinados los parámetros climáticos.

## Figura 2

*Salida de campo en el humedal “Poza de la Arenilla” – Callao*



*Nota.* A: Toma de muestra de heces frescas, B: Bote que nos dirige a la zona del apostamiento de las “gaviotas de Franklin”.

**3.6.1.3. Medición de los parámetros fisicoquímicos del área de colecta de muestras** Se empleó un termómetro acuático (Thermolab, China) y tiras reactivas Pro JBL Aquatest (Alemania) [figura 3, A], para la medición de la temperatura del agua, y la determinación del pH y los nitritos (expresados en mg/l o ppm).

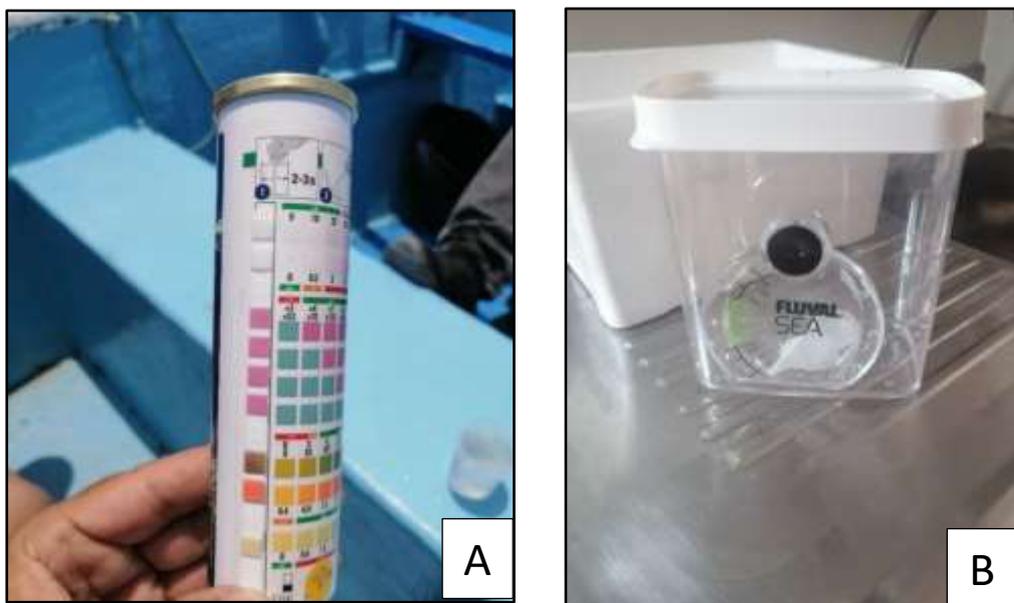
Para la medición de parámetros:

- Se tomó una alícuota del agua en estudio en un frasco estéril.
- Se sumergió una tira reactiva Pro JBL Aquatest en la muestra por 5-10 segundos.
- Se retiró la tira escurriéndola contra el borde de la boca del envase y se procedió a comparar los resultados contra la tira patrón del cartucho Pro JBL.

La salinidad (S) fue medida empleando un salinómetro (Fluval Sea®) [figura 3, B] expresada en ppt.

### Figura 3

*Medición de los parámetros fisicoquímicos del agua.*



#### 3.6.2. *Análisis de laboratorio*

El presente trabajo de laboratorio fue realizado en el módulo de laboratorio del Centro de Capacitación BiLab RUC N° 10075780929 (calle Richard Strauss, N° 270-403C) y con el apoyo del laboratorio de Microbiología de la FCNM de la UNFV.

**3.6.2.1. Enriquecimiento de las muestras.** Cada tubo con muestra de heces será cubierto con agua peptonada alcalina (APA pH ~9), estéril, debidamente ajustado con NaOH 1N y fueron incubados para fines de enriquecimiento por espacio 24-48 horas a temperatura ambiental. Se esperó observar desarrollo de turbidez y/o formación de película o biofilm superficial, sugerente de crecimiento de vibrios.

**3.6.2.2. Análisis microbiológico.** Las muestras fueron sometidas a análisis bacteriológico para el aislamiento e identificación de géneros y especies (con probabilidad de

determinar subespecies), siguiendo el fluxograma (anexo B) para su identificación y aislamiento.

**3.6.2.3. Aislamiento selectivo.** El aislamiento de colonias se llevó a cabo empleando agar Tiosulfato-Citrato-Bilis-Sacarosa (TCBS) (Merck o Himedia), incubando las placas a 37 °C por 24 horas. Cumplido este periodo, se realizó la lectura de placas, donde se descartaron las que no presentaron crecimiento. En el caso de las placas de TCBS con desarrollo, se eligieron colonias sospechosas sacarosa positivas y negativas.

Con una porción de cada colonia seleccionada, se confeccionó un cepario en placas fraccionadas de agar Triptosa Soya (TSA) (JISO), incubándolas a 37°C por 18-24 horas. Después de transcurrido el tiempo, se tomó nota de las características del cepario (aspecto, pigmentos, etc.) en TSA, luego procedió a realizar la identificación bioquímica correspondiente.

**3.6.2.4. Identificación bioquímica.** Se utilizaron los siguientes medios y pruebas de diferenciación bioquímica: TSI (Triple Sugar Iron agar, Merck) para determinar la fermentación de carbohidratos y producción de hidrógeno sulfurado; LIA (Lysine Iron agar, Merck) para comprobar la descarboxilación o desaminación del aminoácido; MIO (Motilidad Indol Ornitina, Merck) para determinar presencia de flagelación, producción de indol por utilización de triptófano, y descarboxilación de ornitina, y agar citrato según Simmons (Merck) empleado como única fuente carbonada.

Los reactivos para la complementación identificatoria fueron: agua oxigenada (de 10 volúmenes), para la reacción de la enzima catalasa, tiras reactivas Bactident (Merck) determinó la actividad de citocromooxidasa, y reactivo de Kovacs (Merck) verificó la producción de indol a partir del crecimiento en MIO.

Las técnicas estuvieron basadas en los textos de MacFaddin (2003), Agurto (2009) y Mariazza (2023) y en el Manual de cólera del Instituto Nacional de Salud (1991). También se contó con el apoyo de la tabla para las especies de *Vibrio*, según Noguerola y Blanch (2008).

**3.6.2.5. Antibiograma (Resistencia / Sensibilidad).** Mediante la técnica de Kirby- Bauer, normalizado por Bernal y Guzmán (1984).

a) Preparación del inóculo en solución salina al 0,85%

Se tomó 5 colonias de cada uno de los aislamientos identificados y se transfirieron a tubos de ensayo que contengan 3 mL de solución salina estéril al 0,85%. Luego, los tubos se colocaron en el espectrofotómetro a temperatura ambiente hasta que se obtenga una longitud de onda en la absorbancia a 622 nm, dentro de un rango de turbidez de 0,08 a 0,12, equivalente a la escala 0.5 de McFarland. La preparación del inóculo en la solución salina al 0,85% permitió que las especies del género *Vibrio* crezcan en el agar Mueller Hinton sin necesidad de agregar NaCl al medio de preparación (Malbrán, 2010).

b) Siembra de la muestra y colocación de los discos de antibióticos:

1. Se sumergió un hisopo estéril dentro de la solución salina al 0,85%, conteniendo la bacteria.
2. Seguidamente, se sembró el inóculo uniformemente sobre la superficie del medio con el hisopo, haciéndolo en tres direcciones.
3. La superficie del medio se dejó secar a temperatura ambiente, con la tapa cerrada durante 3 a 5 minutos.
4. Los discos de antibióticos se colocaron en la superficie del agar con una pinza estéril. Se presionaron ligeramente para asegurar un contacto uniforme. Se utilizaron los siguientes discos:
  - Disco de ampicilina, representativo de las penicilinas, por lo tanto, de amoxicilina.

- Discos de ciprofloxacino, representante de las quinolonas.
- Disco de azitromicina, representante de los macrólidos.
- Disco de cefotaxima, representante de las cefalosporinas.
- Se colocaron los discos, a cierta distancia, para evitar que se sobrepongan los halos de inhibición.
- Se incubaron los medios de cultivo, después de agregar los discos a, 35°C.
- La lectura del antibiograma se realizó luego de las 24 horas.

c) Lectura e interpretación del antibiograma

Las zonas de inhibición serán medidas con Vernier calibrado contra una superficie oscura bajo luz reflejada, sin remover la tapa de la placa Petri. Los resultados de las tomas fueron medidas constatadas con los datos de la figura 4.

**Figura 4**

*Referencia para la evaluación de antimicrobianos y sus halos de inhibición (medidos en mm)*

Antimicrobiano	Bacteria	Contenido del Disco	Diámetro en mm		
			R	I	S
Ampicilina - Penicilinas	V/S	10 µg	≤13	14-16	≥17
Azitromicina – Macrólidos	V/S	15	≤12	-	≥13
Ciprofloxacino - Quinolonas	V	5 µg	≤15	16-20	≥21
	S	5 µg	≤20	21-30	≥31
Cefotaxima – Cefalosporina	V/S	30 µg	≤22	23-25	≥26

*Nota.* Cuadro de referencia de los diámetros del halo de inhibición según CLSI (2010); V: *Vibrio*; S: *Salmonella*; R: Resistente; I: intermedio y S: sensible

**3.7. Análisis de datos**

Los análisis recolectados a partir del proceso experimental se adjuntaron en tablas y dependiendo de su naturaleza se hizo un análisis estadístico, reflejado en gráfico de barras y gráficos porcentuales.

**Criterios para la identificación** (González et al., 2022). Más allá del uso de la herramienta ABIS online (Sorescu y Stoica, 2021) o el programa OIBM (Online Identification of bacteria-Microrao. [www.microrao.com](http://www.microrao.com)), primó la base conceptual que los autores poseen acerca de las bacterias encontradas, si bien, cada software constituye un excelente punto de referencia y orientación, existen ítems que no se encontraron considerados en la base de datos de los programas, como, por ejemplo, el grado de mucosidad de las colonias bacterianas, formación de filancia, debilidad en algunas reacciones, o especificidad en el matiz de los pigmentos microbianos. Los hallazgos se asentaron en las siguientes premisas y condicionamientos: (i) La realización todas las pruebas bioquímicas que exige cada software resultaría demasiado costoso y escaparía al autofinanciamiento de la investigación. En los laboratorios universitarios y clínicos se aplican generalmente tests de bioquímica corta para casos de diagnóstico microbiológico, y de tener alguna duda o incertidumbre, estarían en condición de referirse a laboratorios referenciales (sobre todo ante brotes o epidemias); (ii) Aun alimentando el programa con 10 ó 14 pruebas el índice de similitud que se encuentra generalmente puede llegar a ser elevado. Este índice fue una ayuda complementaria muy útil, pero siempre imperó el criterio del investigador en el momento de decidir a qué género y/o especie corresponde una bacteria determinada, porque se encontró reacciones no esperadas o atípicas; (iii) Las reacciones bioquímicas no esperadas obedecen a que estamos trabajando con seres vivos (bacterias) que pueden mutar o encontrarse bajo condición de estrés, además, los medios de cultivo y reactivos pueden influir en las respuestas, como lo ha demostrado la literatura; (iv) A veces una sola característica no contemplada en un programa, como por ejemplo la producción de algún pigmento en especial (prodigiosina o pioverdina, por citar solo

dos ejemplos), puede dejar sin efecto su aplicación. Por esto reafirmamos que el criterio del investigador se ha priorizado y el ABIS online, o el OIBM fueron considerados como soporte para el diagnóstico; (v) De lo expuesto en estos acápites se desprende la advertencia de Jean MacFaddin (2003), sostiene que debemos ser flexibles al interpretar los resultados de una batería o pool bioquímico, y que a veces es necesario “el mejor encaje” para la identificación. Cuantos más resultados puedan obtenerse, mejores posibilidades de una correcta identificación; (vi) Los programas se vienen aplicando con bastante éxito en el mundo; (vii) Un ejemplo aplicativo: *Escherichia coli* gas negativa, que, considerándola en el software como gas positivo, eleva su probabilidad de 15 a 94%, ello revela la contundencia del gas para la determinación de la especie.

### **3.8. Consideraciones éticas**

En el desarrollo de la investigación no aplica el consentimiento de entidades municipales de la provincia del Callao para la toma de muestras y el procesamiento de éstas.

Bajo ninguna circunstancia se vulneró la integridad de los especímenes apostados en el humedal.

Este proyecto de investigación se desarrolló respetando y conservando la data o información de diversos autores, haciendo empleo de la síntesis y parafraseo del texto, para evitar plagio al autor, por ello se han citado las referencias debidamente según la norma APA 6ta edición.

#### IV. RESULTADOS

De las cinco salidas efectuadas, se obtuvieron 95 cepas microbiológicas a partir de 50 muestras de heces colectadas. En cada salida a campo se tomaron datos climáticos generales y parámetros acuáticos. En lo que respecta a los datos climáticos en la tabla 1, se muestran los correspondientes a las cinco salidas, incluyendo la fecha, temperatura, sensación térmica, precipitación y humedad. Las temperaturas variaron entre 23°C y 27.6°C, con sensaciones térmicas de 23°C a 29°C. No se registró precipitación en ninguna salida, y la humedad fluctuó entre 70% y 80%.

En la tabla 2, se presentan los parámetros acuáticos de las cinco salidas. Se midieron la temperatura del agua, el nivel de nitritos, la salinidad y pH. Los resultados muestran variaciones en estos parámetros a lo largo de las diferentes salidas, proporcionando una visión general de la calidad del agua en cada fecha de muestreo.

**Tabla 1**

*Datos climáticos de las cinco salidas a campo*

Salidas	Condiciones climáticas			
	Temperatura	Sensación térmica	Precipitación	Humedad
1° (03/02/2024)	26°C	28°C	0%	75%
2° (04/02/2024)	26°C	28°C	0%	75%
3° (17/02/2024)	27.6°C	29°C	0%	70%
4° (23/03/2024)	24°C	26°C	0%	77%
5° (13/04/2024)	23°C	23°C	0%	80%

**Tabla 2**

*Parámetros acuáticos*

Fecha de salida	T°	pH	Nitritos	Salinidad
-----------------	----	----	----------	-----------

H <sub>2</sub> O				
1° (03/02/2024)	27.8°C	7.6	0	36 ppt
2° (04/02/2024)	28.4°C	8.0	0	36 ppt
3° (17/02/2024)	27.6°C	7.6	0	36 ppt
4° (23/03/2024)	24.1°C	8.0	0	36 ppt
5° (13/04/2024)	25.6°C	7.6	0	36 ppt

Con respecto a la toma de muestras en la primera salida de campo, no se pudieron coleccionar muestras por ausencia de *L. pipixcan* y de otras especies apostadas (se observaron solo bandadas de aves al vuelo desde la hora de llegada hasta ~ 2 pm).

En las siguientes cuatro salidas las “gaviotas de Franklin” estaban posadas sobre la arenilla del humedal visiblemente húmeda.

De las 95 cepas aisladas de excretas la “gaviota de Franklin”, se evaluaron diversas colonias de bacterias crecidas en TCBS, identificando su textura, y realizando pruebas bioquímicas de oxidasa, catalasa, crecimiento y metabolismo en TSI, LIA, MIO y citrato de Simmons (anexo D). También se determinó el género y especie de las bacterias, así como la similitud/probabilidad porcentual con el software OIBM y/o ABIS (tablas 3, 4, 5 y 6).

### Tabla 3

*Aislamientos y porcentaje para la identificación de bacterias procedentes de las de excretas de “gaviota de Franklin”*

Género/especie	N°	OIBM
bacteriana	de aislamientos	(%)
<i>Vibrio scophthalmi/V. ichthyoenteri</i>	3	36.8
<i>Burkholderia (Pseudomonas) cepacia</i>	14	73,63
<i>Edwardsiella tarda</i>	1	- <sup>a</sup>
<i>Vibrio mimicus</i>	2	52,96
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	1	71.25
<i>Escherichia coli</i> (inactiva)	1	89,61
Total	22	

Nota. Primer muestreo; a, filiación sin programa.

**Tabla 4**

*Aislamientos y porcentaje para la identificación de bacterias procedentes de las excretas de “gaviota de Franklin”*

Género/especie bacteriana	Nº de aislamientos	OIBM (%)
<i>Salmonella</i> sp.	1	100
<i>Shewanella algae</i>	2	- <sup>a</sup>
<i>Citrobacter freundii</i>	1	98,45
<i>C. freundii</i>	2	97,94
<i>Proteus mirabilis</i>	4	93,79
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	1	89,47
<i>Salmonella</i> sp.	2	88,62
<i>S.</i> sp.	1	87,73
<i>Vibrio fischeri</i>	1	80,85
<i>C. freundii</i>	2	69,36
<i>Proteus vulgaris</i>	1	4,84
<i>C. freundii</i>	4	17,36
Total	22	

Nota. Segundo muestreo; a, filiación sin programa.

**Tabla 5**

*Aislamientos y porcentaje para la identificación de bacterias procedentes de las excretas de*

*“gaviota de Franklin”*

Género/especie bacteriana	Nº de aislamientos	OIBM (%)
<i>Vibrio logei</i>	3	74,86
<i>Citrobacter freundii</i>	1	98,45
<i>Escherichia coli</i> (inactiva)	1	93,43
<i>V. logei</i>	2	78,03
<i>V. salmonicida</i>	3	53,8
<i>V. furnissii</i>	7	45,53
<i>V. damsela</i>	1	53,39
<i>Proteus</i> sp.	2	- <sup>a</sup>
<i>V. fischeri</i>	5	37,39
Total	25	

Nota. Tercer muestreo; a, filiación sin programa.

**Tabla 6.**

*Aislamientos y porcentaje para la identificación de bacterias procedentes de las excretas de “gaviota de Franklin”*

Género/especie bacteriana	Nº de aislamientos	OIBM (%)
<i>Staphylococcus</i> sp.	3	Confirmado con Gram <sub>a</sub>
<i>Vibrio iliopiscarius</i>	3	57.36 / 70.19*
<i>V. fischeri</i>	3	80.52
<i>V. hollisae</i>	2	45.60
<i>V. orientalis</i>	2	44.64
<i>V. logei</i>	1	60.41
<i>Dickeya chrysanthemi</i> biovar <i>chrysanthemi</i>	1	40.80
<i>Vibro cholerae</i>	1	37,99/ 99*
<i>Citrobacter freundii</i>	1	97.94
<i>V. diazotrophicus</i>	1	16.55
<i>Hafnia alvei</i> ( <i>Obesumbacterium proteus</i> biogrupo 1)	1	94,5/47*
<i>Morganella morganii</i> subsp. <i>morganii</i>	3	84.01/ 98.02*
Total	22	

*Nota.* Cuarto muestreo; \*Porcentaje de similitud empleando el software ABIS; a, filiación sin programa

En la tabla 7 se presenta la frecuencia de bacterias aisladas de las excretas de *Leucophaeus pipixcan* (“gaviota de Franklin”) durante los cuatro muestreos realizados en el humedal costero. La tabla incluye el género y/o especie de las bacterias aisladas, el número de muestras frecuentes en las que se encontró cada bacteria (n) y el porcentaje correspondiente de cada bacteria en relación con el total de muestras (%). Los resultados nos muestran que el género *Vibrio* fue el más frecuente, representando el 41% (n= 39) del total de bacterias aisladas. Otras especies identificadas incluyen *Burkholderia cepacia* el 15% (n=14), *Citrobacter freundii* el 12% (n=11), y *Salmonella* spp. el 6% (n=6). Además, se identificaron otras cepas con menor frecuencia, como *Escherichia coli* con 2% (n=2) y *Staphylococcus* con 3% (n=3).

En la figura 5, se detalla los resultados de las especies más frecuentemente aisladas dentro del género *Vibrio*, las cuales fueron *V. fischeri* y *V. furnissii*, representando el 23.1%

(n=9) y el 20.5% (n=8) del total de aislamientos, respectivamente. Estas especies fueron identificadas en múltiples muestras, lo que sugiere una presencia significativa en el ambiente estudiado.

Otras especies de *Vibrio* identificadas incluyen *V. logei* con un porcentaje de 10.3% (n=4), *V. scophthalmi/V. ichthyenteri* con 7.7% (n=3), dos especies entre las cuales no se pudo discernir debido a la similitud de sus resultados, *V. salmonicida* y *V. iliopiscarius* 7.7% (n=7). Estas especies también mostraron una frecuencia notable, aunque menor en comparación con *V. fischeri* y *V. furnissii*.

Además, se identificaron especies menos frecuentes como *V. mimicus* con 5.1% (n=2), *V. orientalis* 5.1% (n=2), *V. hollisae* 5.1% (n=2), *V. damsela*, *V. diazotrophicus* y *V. cholerae* con 2.6% (n=1). La presencia de *V. cholerae*, aunque en un porcentaje bajo, es de particular interés debido a su relevancia en salud pública.

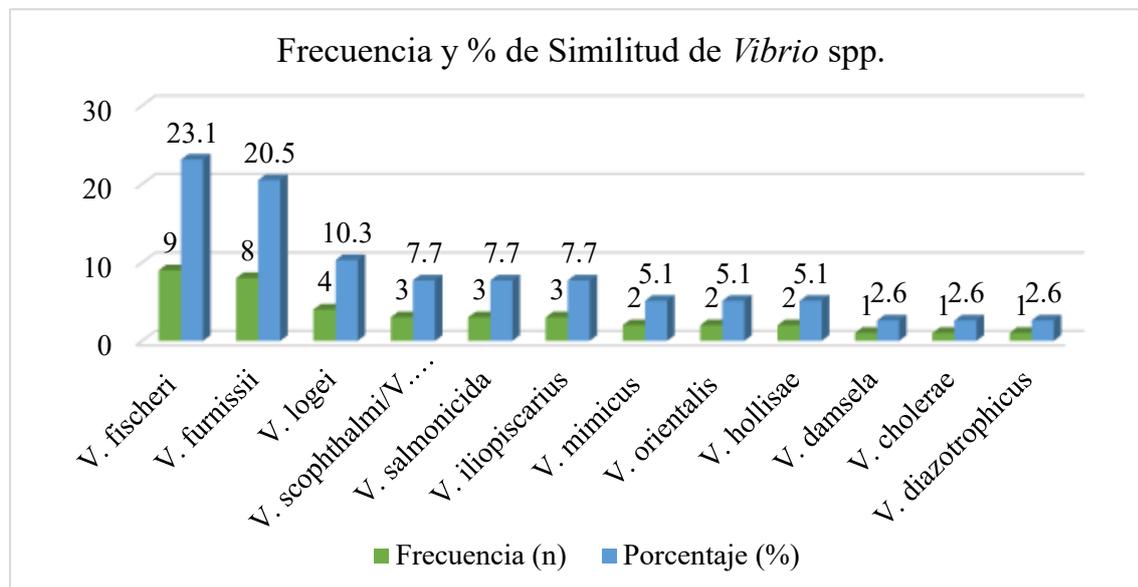
## Tabla 7

Frecuencia y porcentaje total de bacterias aisladas de excretas en los cuatro muestreos de *Leucophaeus pipixcan*, “gaviota de Franklin”

Género y/o especie	n	%
Biotipo indeterminado	4	4
<i>Vibrio</i>	39	41
<i>Burkholderia (Pseudomonas) cepacia</i>	14	15
<i>Citrobacter freundii</i>	11	12
<i>Salmonella</i>	6	6
<i>Proteus mirabilis</i>	4	4
<i>Staphylococcus</i>	3	3
<i>Escherichia coli</i> (inactiva)	2	2
<i>Morganella morganii</i> subsp. <i>morganii</i>	2	2
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	2	2
<i>Proteus</i> sp.	2	2
<i>Shewanella algae</i>	2	2
<i>Dickeya chrysanthemi</i> biovar <i>chrysanthemi</i>	1	1
<i>Edwardsiella tarda</i>	1	1
<i>Hafnia alvei (Obesumbacterium proteus</i> biogrupo 1)	1	1
<i>Proteus vulgaris</i>	1	1
Total	95	100

**Figura 5**

Porcentaje de frecuencia de *Vibrio* spp. aislados de las excretas de *Leucophaeus pipixcan*, “gaviota de Franklin”



En la tabla 8 se presenta la evaluación de 17 cepas pertenecientes a los géneros *Salmonella*, *Shewanella*, y *Vibrio* frente a cuatro antibióticos: ampicilina, azitromicina, ciprofloxacino y cefotaxima. Los resultados obtenidos (tabla 09) mostraron una variabilidad en la sensibilidad con un 84.6 % del total y en resistencia un 15.4% de las cepas a los antibióticos evaluados.

Los resultados detallan que la mayoría de las cepas de *Vibrio* spp. mostraron sensibilidad a los tres antibióticos probados y dando resistencia a la ampicilina y una cepa a la cefotaxima.

Para el género *Salmonella* las cepas 017-3 y 020-1, fueron sensibles a los cuatro antibióticos, mientras que una *Salmonella* sp. (cepa 022-5) mostró resistencia a la ampicilina y a la azitromicina.

La cepa de *Shewanella algae* (021-1) no presentó crecimiento en las condiciones del antibiograma.

En cuanto al género *Vibrio*, de las 13 cepas que se realizó el ATB se observaron diferentes patrones de resistencia y sensibilidad:

- a) *Vibrio cholerae* (035-2), presentó resistencia a la cefotaxima.
- b) *V. furnissii* (cepas 025-2 y 025-3), *V. logei* (027-1), *V. iliopiscarius* (039-1), *V. hollisae* (050-3), *V. salmonicida* (040-1) y *V. orientalis*, presentaron resistencia a la ampicilina, siendo sensible a los demás antibióticos evaluados.

Por otro lado, hay un grupo de *Vibrio* spp. que resultaron sensibles a todos los antibióticos, estos son:

- c) *V. logei* (023-2 y 027-2), *V. fischeri* (021-4 y 023-1) y *V. damsela* (029-2).

Estos resultados se detallan en la siguiente tabla.

Estos resultados se detallan en la siguiente tabla 8.

**Tabla 8**

*Resultado de antibiograma de especies patogénicas y/o oportunistas frente a cuatro antibióticos*

Código de cepa	Especie	Ampicilina	Azitromicina	Ciprofloxacino	Cefotaxima
017-3	<i>Salmonella</i> sp.	S	S	S	S
020-1	<i>S.</i> sp.	S	S	S	S
022-5	<i>S.</i> sp.	R	R	S	S
021-1	<i>Shewanella algae</i>	NC	NC	NC	NC
025-2	<i>Vibrio furnissii</i>	R	S	S	S
025-3	<i>V. furnissii</i>	R	S	S	S
027-1	<i>V. logei</i>	R	S	S	S
023-2	<i>V. logei</i>	S	S	S	S
027-2	<i>V. logei</i>	S	S	S	S
035-2	<i>V. cholerae</i>	S	S	S	R
039-1	<i>V. iliopiscarius</i>	R	S	S	S
050-3	<i>V. hollisae</i>	R	S	S	S
021-4	<i>V. fischeri</i>	S	S	S	S
023-1	<i>V. fischeri</i>	S	S	S	S
028-1	<i>V. salmonicida</i>	R	S	S	S
029-2	<i>V. damsela</i>	S	S	S	S
040-1	<i>V. orientalis</i>	R	S	S	S

*Nota.* R: resistencia; S: sensibilidad; NC: No creció.

**Tabla 9**

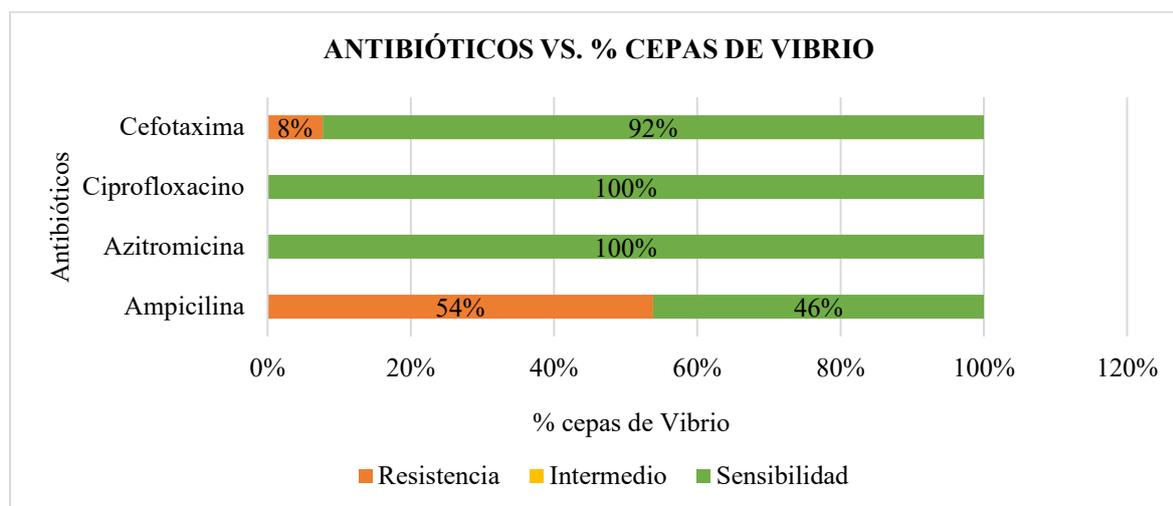
Porcentaje (%) del total de pruebas de los cuatro antibióticos en las cepas de *Vibrio* spp.

	Resistencia	Intermedio	Sensibilidad	Total
<i>Ampicilina</i>	7	0	6	13
<i>Azitromicina</i>	0	0	13	13
<i>Ciprofloxacino</i>	0	0	13	13
<i>Cefotaxima</i>	1	0	12	13
<i>Total</i>	8	0	44	52
<i>Porcentaje</i>	15.4	0.0	84.6	100.0

En la figura 6 nos muestra el porcentaje de resistencia y sensibilidad de las cepas de *Vibrio* frente a cuatro antibióticos: ampicilina, azitromicina, ciprofloxacino y cefotaxima. Se observó que el 100% (13 cepas de *Vibrio*) fueron sensibles a azitromicina y ciprofloxacino lo que indica una alta eficacia de estos antibióticos contra *Vibrio*. Sin embargo, en el caso de la cefotaxima, un 8% (1 cepa) mostró resistencia, en la ampicilina, un 54% (7 cepas) mostraron resistencia, y el 46% (06 cepas) restante fueron sensibles. No se detectaron casos de sensibilidad intermedia en ninguno de los antibióticos evaluados.

**Figura 6**

Porcentaje de resistencia y sensibilidad de cepas de *Vibrio* frente a diferentes antibióticos



Nota. R: resistencia; S: sensibilidad

## V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Cada año, miles de aves migratorias recorren grandes distancias de un continente a otro. Las aves migratorias desempeñan un papel epidemiológico importante al transportar y hacer circular bacterias de impacto para la salud pública durante su itinerario de vuelo (Kobuszewska, y Wysok, 2024), incluyendo cepas de *Vibrio* spp., dentro las cuales se encuentra el bacilo del cólera (Zheng et al., 2021).

En este estudio hemos analizado muestras de fecales de *Leucophaeus pipixcan* con el objetivo particular de detectar vibrios, otras bacterias oportunistas y al mismo tiempo, poder evaluar la resistencia a algunos antibióticos.

En nuestra investigación se realizaron cinco salidas de campo. Los parámetros climáticos y fisico-químicos pueden tener un impacto significativo en el comportamiento y presencia de las aves en un área determinada (Uribe, 2015), tanto como en la presencia y supervivencia de los microorganismos (Wang y Gu, 2005). En este estudio registramos la temperatura ambiental, sensación térmica, precipitación y humedad. Estos factores influyen en la disponibilidad de alimento y en las condiciones de anidación, lo que a su vez puede afectar la presencia de aves en los ecosistemas acuáticos.

Según García (2015), la temperatura y la sensación térmica pueden afectar la actividad diaria de las aves. Por ejemplo, temperaturas más altas pueden llevar a las aves a buscar refugio en áreas sombreadas o a reducir su actividad para evitar el estrés térmico. En las salidas de campo la temperatura varió entre 23 a 27.6°C, con una sensación térmica máxima de 29°C. Otro factor importante lo constituirían las mareas; las fluctuaciones oceánicas pueden haber influido en la ausencia de aves posadas sobre el sustrato en la primera salida. Las condiciones de bajamar conducen al aumento considerable de la temperatura de la arena y a la aridez del terreno, situación que explicaría el porqué de la ausencia de aves posadas, hecho que no ocurrió en los muestreos subsiguientes. El humedal suele poseer un sustrato generalmente húmedo. La

bandada de aves observadas se orientó a la zona tidal o de mareas, la que no corresponde al biotopo del humedal, a pesar de su cercanía. La zona de rompiente refresca y humedece la zona costera colindante.

La humedad y la precipitación también juegan un papel crucial en la ecología de las aves. La elevada humedad puede afectar la disponibilidad de alimento, tales como insectos y otros invertebrados, que son esenciales para muchas especies de aves, según el estudio de Saino et al. (2011).

Los parámetros acuáticos de la tabla 2 registrados durante el periodo de estudio muestran una relativa estabilidad en cuanto al pH, nitritos y salinidad. El pH osciló entre 7.6 y 8.0, lo que indica condiciones ligeramente alcalinas, favorables para una amplia gama de organismos acuáticos; sin embargo, puede causar un efecto perjudicial para bacterias tales como *Escherichia coli* (Rozen and Belkin, 2001), microorganismo indicador fecal por excelencia, cuya presencia no fue investigada en el agua ni fue encontrado en las heces de las aves (a excepción de una cepa de *E. coli* inactiva). Pese a ello registramos la presencia de escasas cepas de *Salmonella* (tabla 4). Al respecto, se ha reportado que esta enterobacteria puede hallarse presente en ausencia de su indicador, lo que pone en tela de juicio la calidad de *E. coli* como indicativo de *Salmonella* (Winfield y Groisman, 2003). La presencia de *E. coli* inactiva con un porcentaje de similitud del 89,61 % coincide con los registros de López y Ramírez (2019) y Hernández et al. (2020), quienes resaltaron su prevalencia en ambientes contaminados por aves acuáticas, lo que para ellos sugiere un papel potencial en la transmisión de patógenos a humanos.

La presencia de *Salmonella* subraya la posible implicación de las excretas de las gaviotas de Franklin como reservorio de patógenos con impacto para la salud.

Según Stumm, et. al. (1981) la ausencia de nitritos en todas las mediciones en el campo sugiere una buena calidad del agua, la que a niveles elevados podría resultar ser tóxica para la

fauna acuática. La salinidad se mantuvo constante, con valores de 36 ppt (partes por mil o ‰), lo cual es característico de ambientes marinos estables.

La temperatura del agua mostró cierta variabilidad, con registros de entre 24.1°C y 28.8°C. Estas fluctuaciones podrían estar asociadas a cambios estacionales o a diferencias en las condiciones climáticas durante las fechas de muestreo. Según García et al. (2015), las temperaturas más cálidas pueden favorecer la disponibilidad de alimento y la actividad metabólica de las aves acuáticas, lo que podría influir en el apostamiento de las gaviotas de Franklin. Por otro lado, temperaturas más bajas podrían limitar la disponibilidad de recursos o afectar la comodidad térmica de las aves, como se ha observado en estudios similares realizados en la costa del Pacífico (Smith y Jones, 2012).

En comparación con otros estudios, las condiciones registradas en este análisis parecen ser óptimas para el apostamiento de *L. pipixcan*. Por ejemplo, Martínez y López (2018) encontraron que estas aves prefieren zonas con salinidad estable y pH ligeramente alcalino, lo que concuerda con los datos de este estudio. Además, como hemos señalado, la ausencia de nitritos sugiere un entorno saludable, esencial para la conservación de la biodiversidad y el mantenimiento de las poblaciones de aves marinas. La falta de nitritos en el humedal se debe a la abundante proliferación permanente de algas, p. e. *Ulva* sp. o “lechuga de mar”, que los puede transformar en aminoácidos u otras moléculas orgánicas.

El evento de El Niño es conocido por causar alteraciones significativas en las condiciones climáticas, especialmente en las regiones costeras del Pacífico. Durante los eventos de El Niño, se observa un aumento en la temperatura del agua del mar, cambios en los patrones de precipitación y una mayor variabilidad en la humedad y temperatura atmosférica (Trenberth, 1997). Estos cambios podrían afectar directamente a la ecología de las aves marinas, incluyendo a las gaviotas de Franklin.

Los datos climáticos registrados en la tabla 1 muestran temperaturas relativamente estables, con ligeros descensos hacia el final del periodo de estudio. Es posible que estos cambios reflejen una influencia moderada del evento El Niño, especialmente considerando la disminución gradual de la temperatura y el aumento en la humedad. Las investigaciones de Schneider y Miller (2001) indican que El Niño puede alterar las áreas de apostamiento y reproducción de las aves marinas, debido a cambios en las condiciones climáticas locales. Las condiciones de mayor humedad y las fluctuaciones en la temperatura pueden influir en la elección de hábitats por parte de las gaviotas de Franklin, buscando zonas que les proporcionen mejores condiciones térmicas y mayor disponibilidad de recursos.

En el primer muestreo se aislaron 22 cepas bacterianas (tabla 3). Entre las especies identificadas, destacan *Vibrio mimicus* y *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia*. Resultados similares se han reportado en investigaciones previas. Por ejemplo, en el estudio de Martínez et al. (2019), se documentó la prevalencia de *B. cepacia* en ecosistemas acuáticos contaminados, con implicancia directa en enfermedades gastrointestinales en humanos y animales.

*V. mimicus* es una especie patógena que se encuentra en ambientes acuáticos y es conocida por causar infecciones en humanos. Fu et al. (2019) documentó el hallazgo de esta especie en excretas de aves acuáticas en el estuario del río Liaohe en China. Este estudio sugiere que las aves acuáticas pueden actuar como vectores, dispersando la bacteria a lo largo de sus rutas migratorias. En nuestro país se ha registrado un caso de intoxicación alimentaria en personas adultas jóvenes y niños, por consumo de pescado y otros alimentos (Carhuaz). El diagnóstico clínico emitido por los médicos de los establecimientos de salud fue: enfermedad diarreica aguda con deshidratación moderada. El agente etiológico responsable fue identificado como *V. mimicus* (Zamudio, 2005).

Registramos así mismo el hallazgo de dos especies cuya similitud en porcentualidad, nos impidió separarlas; no obstante *Vibrio scophthalmi* y *V. ichthyenteri* son especies cuyo perjuicio al ser humano no ha sido documentado.

La identificación de *Plesiomonas shigelloides*, aunque menos común en el presente estudio fue aislada con una similitud 71,25 %, se alinea con investigaciones que documentan su papel como patógeno oportunista en aguas dulces y salobres (Gómez y Torres, 2017). Esta bacteria puede causar gastroenteritis, una infección del tracto gastrointestinal que provoca síntomas como diarrea, fiebre, calambres abdominales y dolor.

En estudios realizados en reservorios acuáticos, es común encontrar la presencia de los géneros *Plesiomonas*, los cuales comparten el hábitat con *Vibrio cholerae* y pueden ser confundidos con esta especie; sin embargo, estos microorganismos suelen ser inhibidos por las sales biliares (8 g/l) del medio TCBS. En caso de que logren desarrollarse en este medio, lo hacen formando colonias pequeñas (Keast y Riley, 1997).

Por otro lado, *Vibrio fischeri*, con un porcentaje de similitud del 80,85 %, no es una bacteria patógena; sin embargo, investigaciones como las de Hernández et al. (2020) destacan su relación filogenética con otros miembros del género *Vibrio*, conocidos por causar infecciones gastrointestinales y septicemia en humanos. Este hallazgo, aunque menos esperado, indica la necesidad de monitorear constantemente las especies del género *Vibrio* en ambientes asociados con fauna silvestre.

Otras bacterias como *Citrobacter freundii* y *Proteus mirabilis* también fueron identificadas con altos porcentajes de similitud (hasta 98,45 % y 93,79 %, respectivamente). Aunque no son el foco principal de este análisis, su presencia refuerza la importancia de las aves acuáticas como vectores de patógenos oportunistas (Gómez y Torres, 2017). Con respecto a la diferencia en el porcentaje de similitud obtenido por el programa de software ABIS online para *Citrobacter freundii* se obtuvo un 98.45% en una cepa y en otro un 17.36%, puede deberse

a varias razones relacionadas como lo es la variabilidad fenotípica de las bacterias, la calidad de las pruebas bioquímicas realizadas, y la precisión del algoritmo del software.

En cuanto a *V. vulnificus*, es una bacteria patógena que se encuentra comúnmente en ambientes marinos y estuarinos. Esta bacteria es conocida por causar infecciones graves en humanos, especialmente a través del consumo de mariscos contaminados o por la exposición de heridas abiertas al agua contaminada. Sin embargo, la presencia de *V. vulnificus* en excretas de aves no está ampliamente documentada como en otros ambientes. Estudios como el de Ramírez et al. (2018) también destacan su relevancia en brotes asociados con consumo de mariscos contaminados, lo que subraya la importancia de su detección en este tipo de estudios ecológicos.

Respecto a la tabla 5, *V. furnissii* (descrito inicialmente por Lee et al., [1981], como una biovariedad II aerogénica de *V. fluvialis*), es una especie que muy poco se aislada en estuarios, pero que se ha asociado a enfermedades diarreicas en el hombre (Esteve et al., 1995). Y en general lo que predomina este tercer muestreo son los *vibrios*, como *V. logei* (74,86% y 78,03% de similitud), *V. salmonicida* (53,8%), *V. furnissii* (45,53%), *V. damsela* (53,39%) y *V. fischeri* (37,39%). Algunas de estas especies son conocidas por su capacidad de causar infecciones en humanos, especialmente en contextos de consumo de mariscos contaminados y exposición a aguas contaminadas. Por ejemplo, *V. salmonicida* y *V. furnissii* han sido reportados como patógenos en infecciones gastrointestinales y de heridas (Quiñones-Ramírez et al., 2000).

En los resultados de los aislamientos del cuarto muestreo se halló *Staphylococcus* sp. (Huamanchumo, 2021) Esto cuestiona la selectividad del medio TCBS (HiMedia Laboratories, India). Aunque el agar inhibió la mayoría de microbiota grampositiva, permitió el crecimiento de Enterobacteriaceae y otros microorganismos no esperados, como fue el caso de la estafilococácea. Se sospechó la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* debido al pigmento

verde (pioverdina) y la película flotante observada en el APA, aunque no se formaron colonias en TCBS. Rodríguez et al. (2008) encontraron *Pseudomonas* sp. en aves residentes y migratorias en Sucre, Venezuela. El uso de agar MacConkey o Cetrimide habría mejorado la recuperación de bacilos entéricos y *Pseudomonas*.

En los resultados de la tabla 7, la frecuencia y porcentaje de bacterias aisladas de excretas en los cuatro muestreos de *L. pipixcan*, “gaviota de Franklin” lo más importante es que se identificó *Vibrio cholerae* (1%, n=1). Según Blake et al. (1980) la fuente de infección de las aves con las cepas epidémicas de *V. cholerae* sigue siendo desconocida. Lo más probable es que las aves puedan haberse infectado con el microorganismo mientras se alimentaban en un cuerpo de agua en el área de estudio contaminada con material fecal de un portador humano de *V. cholerae* o también las aves migratorias pueden haber transportado el organismo al humedal “Poza La Arenilla” desde un foco donde persiste *V. cholerae*, como humedales a lo largo de Canadá y el norte de Estados Unidos, e incluso en nuestros propios estuarios o desembocaduras de ríos (Mariazza et al. 2006; Mariazza et al. 2019). Es preciso destacar que *V. cholerae* epidémico-pandémico (cepas Eltor 01) asolaron nuestro país en el verano de 1991 por la manifestación de la séptima pandemia de cólera iniciada en Indonesia en 1961; luego, los hallazgos disminuyeron en concordancia con la falta de detección de cepas de *V. cholerae* 01, las que fueron siendo reemplazadas en la naturaleza por serotipos menos inofensivos o cepas-non-01 (Bravo y Guillén, 2011; Mariazza y Huamanchumo, 2020). Es muy probable que las aves acuáticas representen la perpetuidad de *V. cholerae* en los ecosistemas acuáticos en el mundo. Es notable el hecho de que después de más de treinta años de la epidemia de cólera en Perú y gran parte de América latina, se pueda haber detectado en un reservorio acuático silvestre, el bacilo implicado en el cólera, siendo el evento El Niño, con la consecuente elevación de la temperatura en los ecosistemas, un factor favorable para la presencia de la bacteria.

La detección de *V. cholerae* en las heces de aves acuáticas tiene consecuencias importantes desde el punto de vista de la salud pública. Los excrementos de aves que contaminan un suministro de agua con cepas de *V. cholerae* podrían causar enfermedades en los bañistas que acuden al humedal, o provocar cuadros de diarrea a partir de alimentos marinos ingeridos en condiciones subóptimas de manipulación e higiene.

En la figura 5 resumimos la frecuencia y similitud de los doce vibrios que se han aislado, dentro de los cuales se han reportado especies dañinas para la salud pública ya que se encuentran ecosistemas recreacionales contaminados, lo que puede suponer un grave riesgo para la salud humana. El contacto con tales especies puede implicar infecciones en heridas, oído medio, e incluso llegar a casos de sepsis, especialmente en individuos inmunocomprometidos y en los grupos etarios extremos (Centers for Disease Control and Prevention – CDC, 1999).

*Vibrio* spp. evidenció sensibilidad antimicrobiana de 84.6% frente a los antibióticos usados (ampicilina, cefotaxima, ciprofloxacino y azitromicina) versus 15.4% de resistencia (tabla 9). Esto concuerda parcialmente con los resultados obtenidos por Mendoza et al. (2016), estudio realizado en Ecuador, en el que se refiere que más de la mitad de las cepas evaluadas por ATB mostraron un 64% de susceptibilidad, 13% presentaron sensibilidad intermedia, y en menor medida 23% de las cepas fueron resistentes. Así mismo, la misma fuente refiere que la amoxicilina es el antibiótico con más perfiles de resistencia, con un 65% de cepas que resultaron resistentes a este antibiótico, lo que concuerda con nuestra determinación, en la que se obtuvo 54% de cepas resistentes a la ampicilina (amoxicilina). Estos resultados evidencian que la resistencia a este antibiótico es bastante común en *Vibrio* de ambientes marinos, como lo demuestran los estudios de Oh et al. (2011). Los hallazgos de Albuquerque et al. (2008), Mendoza et al. (2016), Rosado (2018) y Letchumanan et al. (2019) también confirman esta resistencia, con porcentajes de cepas resistentes que varían entre 50-75%, 65%, 57% y 85%,

respectivamente. Esta resistencia se debe a la presencia de un gen de  $\beta$ -lactamasa en el ADN cromosómico de *Vibrio*, según Hossain et al. (2020).

*V. cholerae*, mostró resistencia en el antibiótico cefotaxima. Un estudio realizado encontró que la resistencia a la cefotaxima en *V. cholerae* ha aumentado significativamente en los últimos años. Utilizando el método de difusión de discos, se observó que el 15% de las cepas de *V. cholerae* presentaron resistencia a la cefotaxima (Nateghizad et al., 2020). Ceccarelli et al. (2016) en Bangladesh, también reportó una disminución en la susceptibilidad de *V. cholerae* a los  $\beta$ -lactámicos de espectro extendido, incluyendo la cefotaxima. Los autores señalaron que la resistencia a estos antibióticos se debe principalmente a la producción de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (ESBL), que pueden hidrolizar el anillo  $\beta$ -lactámico y neutralizar la eficacia del antibiótico.

Según la Organización la Organización Panamericana de la Salud (OPS) para el tratamiento del cólera se deberá emplear doxiciclina (para adultos) y azitromicina o eritromicina en caso de embarazadas o niños. Las drogas de segunda línea son: ciprofloxacino o azitromicina para adultos y ciprofloxacino o doxiciclina para niños. En la investigación se obtuvo que el 100% de cepas de *Vibrio* spp. (incluido *V. cholerae*) evaluadas presentaron sensibilidad a ciprofloxacino y azitromicina (figura 6). Esto concuerda con el estudio realizado por Zayas, Berreras y Marrero (2013), que las cepas evaluadas son susceptibles a la azitromicina y ciprofloxacino, por lo que su uso resulta efectivo para tratar la colonización intestinal de *V. cholerae*.

Es importante que el humedal “Poza La Arenilla” es visitado por miles de personas, especialmente durante los meses de verano. Esta estación favorece el crecimiento de *Vibrio* spp. debido al aumento de la temperatura del agua, máxime durante los eventos climáticos. La población en riesgo incluye a niños, ancianos y pacientes inmunosuprimidos, quienes son más vulnerables a las infecciones.

La sensibilidad observada en dos de las cepas frente a los cuatro antibióticos evaluados podría deberse a la ausencia de mecanismos de resistencia adquiridos, como  $\beta$ -lactamasas o modificaciones en los sitios de acción de los macrólidos. Este hallazgo coincide con estudios como el de Alvarez et al. (2016), quienes reportaron que cepas de *Salmonella* aisladas de aves de corral en regiones de Colombia también presentaron sensibilidad a una gama de antibacterianos, incluyendo ampicilina y cefotaxima, sugiriendo una posible ausencia de presión selectiva significativa en estos ambientes naturales. Por otro lado, la resistencia observada en una cepa de *Salmonella spp.* a ampicilina y azitromicina, pero no a ciprofloxacino ni cefotaxima, podría explicarse por la adquisición de genes de resistencia específicos, como los genes de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE) que inactivan los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, y la posible presencia de bombas de expulsión que reducen la concentración intracelular de macrólidos. Este patrón de resistencia es similar al reportado por Huertas et al. (2018), quienes documentaron la presencia de cepas de *Salmonella* resistentes a ampicilina y azitromicina en muestras clínicas humanas, mientras que mantenían sensibilidad a ciprofloxacino y cefotaxima, sugiriendo una posible transferencia horizontal de genes de resistencia en el entorno hospitalario.

La resistencia a ampicilina es particularmente preocupante debido a su amplio uso en la medicina veterinaria y humana. Estudios como el de García et al. (2017) han demostrado que la presión selectiva generada por el uso extensivo de antibacterianos en la producción animal puede conducir a la emergencia de cepas resistentes. Este estudio también señala la presencia de resistencia a azitromicina, lo que podría estar relacionado con la exposición a dosis subterapéuticas de macrólidos en el ambiente natural de las aves migratorias.

En general, el estudio sobre las excretas de la gaviota de Franklin (*Leucophaeus pipixcan*) en el humedal costero Poza La Arenilla reveló una diversidad significativa de

bacterias, muchas de las cuales tienen relevancia epidemiológica y son potencialmente peligrosas para la salud pública, en especial, *Vibrio*.

## VI. CONCLUSIONES

- El estudio identificó una amplia diversidad de bacterias en las excretas de *Leucophaeus pipixcan*, destacando la presencia de patógenos relevantes para la salud pública, en particular, *V. cholerae*, agente causal del cólera en el mundo.
- La presencia de especies tales como *V. mimicus*, *V. furnissii* y *V. damsela* fue significativa. Estas bacterias están asociadas a enfermedades gastrointestinales y otras infecciones graves en humanos.
- Se observó una resistencia preocupante en *Vibrio* spp., con una cifra de 54% frente a la ampicilina, lo que representa un riesgo significativo para el tratamiento de infecciones humanas.
- Las gaviotas de Franklin, al ser aves migratorias, actúan como vectores potenciales para la dispersión de bacterias patógenas resistentes a los antibióticos, representando un peligro para la salud pública en áreas costeras.

## VII. RECOMENDACIONES

- Establecer programas de vigilancia continua para monitorear la presencia de bacterias patógenas y su resistencia antimicrobiana en aves migratorias, especialmente en humedales costeros, enfocándose en la detección temprana de patógenos zoonóticos y la prevención de posibles brotes de enfermedades.
- Ahondar en investigaciones con pruebas más específicas y complementarias, como pruebas moleculares para confirmar la identificación de especies patógenas como la presencia de *Vibrio* y *Salmonella*.
- Llevar a cabo estudios donde las especies patógenas se enfrenten con más antibióticos específicos y con un mayor número de cepas, para identificar patrones de resistencia antimicrobiana.
- Comparar el porcentaje de probabilidad del resultado del software OIBM, con los resultados de las pruebas moleculares en las bacterias aisladas de diferentes muestras de aves migratorias.
- Insistir en la determinación de bacterias de importancia médica en reservorios acuáticos.
- Realizar campañas de educación y concienciación dirigidas a las comunidades locales sobre los riesgos asociados con la presencia de patógenos en aves migratorias y la importancia de la protección de los ecosistemas.

## VIII. REFERENCIAS

- Agurto, T. (2009). *Microbiología Bioquímica bacteriana Enterobacteriaceae*. Imprenta Unión.
- Agencia Andina de Noticias. (9 de mayo). *¿Cómo impactó El Niño en Perú en los eventos de 1982-1983, 1997-1998 y 2017?*. <https://andina.pe/agencia/noticia-como-impacto-nino-peru-los-eventos-19821983-19971998-y-2017-943812.aspx>
- Actualidad Ambiental. (13 de mayo). Actualidad Ambiental <https://www.actuadiadambiental.pe>
- Altizer, S., Bartel, R., y Han, B. A. (2011). Animal migration and infectious disease risk. *Science*, 331(1), 296-302. <https://doi.org/10.1126/science.1194694>
- Atterby, C., Ramey, A. M., Hall, G. G., Jarhult, J., Borjesson, S., y Bonnedahl, J. (2016). Increased prevalence of antibiotic-resistant *E. coli* in gulls sampled in Southcentral Alaska is associated with urban environments. *Infection Ecology y Epidemiology*, 6(1), 1-7. <https://doi.org/10.3402/iee.v6.32334>
- Barrio, J., y Guillén, C. (2014). *Aves de los humedales de la costa peruana*. Lima, Perú: Primera Edición. [https://www.researchgate.net/publication/319478616\\_Aves\\_de\\_los\\_humedales\\_de\\_la\\_costa\\_peruana](https://www.researchgate.net/publication/319478616_Aves_de_los_humedales_de_la_costa_peruana)
- Bernal M., y Guzmán, M. (1984). El Antibiograma de Discos, Normalización de la Técnica de Kirby-Bauer. *Biomédica* 70 (3-4): 112-121. <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/1891>
- Blake, P. A., Weaver, R. E., y Hollis, D. G. (1980). The source of infection of birds with epidemic strains of *Vibrio cholerae* remains unknown. *Journal of Clinical Microbiology*, 11 (3), 3-10. Recuperado de *Journal of Clinical Microbiology*.

- Blanco, D. (1999). Los humedales como hábitat de aves acuáticas. Tópicos sobre humedales subtropicales y templados de Sudamérica. Oficina Regional de Ciencia y Tecnología de la UNESCO para América Latina y el Caribe-ORCYT-Montevideo–Uruguay. pp. 219-228. <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000150270>
- Bonnedahl, J., y Järhult, J. D. (2014). Antibiotic resistance in wild birds. *Upsala Journal of Medical Sciences*, 119(2), 113-116. <https://doi.org/10.3109/03009734.2014.905663>
- Botelho-Nevers, E., Gouriet., F., Rovey, C., Paris, P., Roux, V., Raoult, D. and Brouqui, P. (2005). First case of osteomyelitis due to *Shewanella algae*. *J. Clin. Microbiol.* **43**: 5388-5390.
- Bravo Cruz, N., y Guillén, A. (2011). Reporte histórico: Primer Aislamiento de *Vibrio cholera* serogrupo O1 biovar El Tor serovar Inaba durante la epidemia de cólera en el Perú-1991. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 28, 136-139.
- Cañigral, I., Moreno, Y., Alonso, J., González, A., y Ferrús, M. (2010). Detection of *Vibrio vulnificus* in seafood, seawater and wastewater samples from a Mediterranean coastal area. *Microbiological research*. **165**: 657-664.
- Carazas, N., Camargo, L., Gil, F. y Zarate, R. (2015). Avifauna del área de conservación regional (ACR) humedales de Ventanilla, Callao, Perú: actualización. *Científica* 12 (1). <https://revistas.cientifica.edu.pe/index.php/cientifica/article/view/162>
- Centers for Disease Control and Prevention. (1999). Guideline for the prevention of surgical site infection, 1999. Recuperado de CDC Stacks.
- Chung, D. M., Ferree, E., Simon, D. M., y Yeh, P. J. (2018). Patterns of bird-bacteria associations. *EcoHealth*, 15(3), 627-641. <https://doi.org/10.1007/s10393-018-1342-5>

- Clinical and Laboratory Standards Institute- CLSI. (2010). *Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria; Approved Guideline* (3rd Edn). <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2013/03/Manual-de-Pruebas-de-Sensibilidad-Vibrio-cholerae-INEI-Malbr%C3%A1n-FINAL.pdf>
- Convención de Ramsar (2016) Introducción a la Convención sobre los Humedales. Manual de la Convención de Ramsar 5a edición. [https://www.ramsar.org/sites/default/files/documents/library/handbook1\\_5ed\\_introducciontoconvention\\_s\\_final.pdf](https://www.ramsar.org/sites/default/files/documents/library/handbook1_5ed_introducciontoconvention_s_final.pdf)
- Cotillo, A., Podestá, J., Segura-Cobeña, E. y Cabanillas, G. (2018). Spatial distribution of shorebirds waders for eleven zones described in the arenilla coastal wetland - La Punta, Callao. *The Biologist*. **16**: 1-19.
- Cotillo, A., Podestá, J., Segura-Cobeña, E., y Cabanillas, G. (2018). *Distribución espacial de las aves playeras limícolas para once zonas descritas en el humedal costero Poza de la Arenilla - La Punta, Callao*. *The Biologist* (Lima). Vol. 16, Nº1. <https://revistas.unfv.edu.pe/rtb/article/view/226>
- El Peruano (1999). Declaran área natural “Poza de la Arenilla” como Zona Reservada de Protección Municipal”, Acuerdo de Concejo N° 011/99-MDLP. *El Peruano*. 173879-173880.
- Esteve, C., Jofre, J., y Toranzo, A. E. (1995). *Vibrio furnissii*: A species rarely isolated from estuaries but associated with diarrheal diseases in humans. *Journal of Applied Microbiology*, 79 (1), 123-129.
- Fernández-Delgado, M., Sanz, V., Giner, S., Suárez, P., Contreras, M., Michelangeli, F., y García-Amado, M. (2016). Prevalence and Distribution of *Vibrio* spp. In Wild Aquatic Birds of

the Southern Caribbean Sea, Venezuela, 2011-12. *Journal of Wildlife Diseases*, 52: 621-626. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27224211/>

Fu, S., Hao, J., Yang, Q., Lan, R., Wang, Y., Ye, S., Liu, y Li, R. (2019). Long-distance transmission of pathogenic *Vibrio* species by migratory waterbirds: a potential threat to public health. *Scientific Reports. Nature research*. **9**: 1-11.

García, J. L. V. (2015). La importancia de la sensación térmica. *AviNews-América Latina*. Recuperado de aviNews.

García, P., González, M., y Pérez, R. (2015). Efectos de la temperatura del agua en la biodiversidad marina. *Revista de Ecología Marina*, 22 (3), 45-60.

García, P., López, A., y Ramírez, H. (2017). Impacto del uso de antibióticos en la producción animal sobre la resistencia bacteriana. *Journal of Veterinary Medicine*, 12(4), 210-218.

Gogu-Bogdan, M., Damoc, I., Pall, E., Niculae M. y Spinu, M. (2014). Wild birds as potential vectors for pathogen dissemination on migration routes in the Danube delta wetlands. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 3: 890-897. <https://www.ijcmas.com/vol-3-5/Gogu-Bogdan%20Mircea,%20et%20al.pdf>

Gómez, L., y Torres, M. (2017). Distribución de bacterias oportunistas en ecosistemas acuáticos y su implicación en la salud pública. *Revista de Microbiología Ambiental*, 14 (3), 45-55.

González, G., Mariazza, J., Ruíz, B. y Tito, A. (2022). Microbiota aislado en las heces de *Phalacrocorax brasilianus* (“cormorán neotropical”) y *Leucophaeus pipixcan* (“gaviota de Franklin”) en el humedal costero “Poza de la Arenilla”, La Punta-Callao y su importancia en la salud humana. *Boletín de Lima*. **44**: 427-440.

- Greca, A. (2003). La resistencia bacteriana y los nuevos antibióticos. En Libro de Ponencias: VI Jornadas Internacionales de Medicina Interna - X Jornadas de Medicina Interna del Litoral Argentino.
- Halpern, M., Senderovich, y Izhaki, I. (2008). Waterfowl-the missing link in epidemic and pandemic cholera dissemination? PLoS Pathog 4: e1000173. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2565833/>
- Hatha, A., Divya, P., Saramma, A., Rahiman, M., Krishnan, K., (2013). Migratory bird, *Branta leucopsis* (Barnacle goose), a potential carrier of diverse *Escherichia coli* serotypes into pristine Arctic environment. Curr. Sci. 104, 1078–1080
- Hernández, R., Torres, P., y Morales, C. (2020). Especies del género *Vibrio* en aguas costeras: una revisión sobre su impacto sanitario. Revista de Microbiología Ambiental, 25 (4), 102-115.
- Huamanchumo, F. (2021). *Aislamiento e identificación de Vibrio cholerae y otras especies de vibrios halofílicos patógenos a partir de varios reservorios acuáticos naturales en la zona de la bocana del río Lurín*. [Tesis de pregrado, Universidad Ricardo Palma]. Repositorio Institucional URP. <https://repositorio.urp.edu.pe/entities/publication/ecd710a8-4ce9-4a74-86d2-ee8827d3af1c>
- Instituto Nacional de Salud. (1991). Manual de laboratorio de cólera. Serie de Normas Técnicas N°2, INS, Lima-Perú.
- Islam, M., Nayeem, M., Hasan, M., Sobur, M., Ievy, S., Rahman, S., Kafi, M., Ashour, H. M., y Rahman, M., (2021). Virulence Determinants and Multidrug Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Migratory Birds. Antibiotics 10, 190. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10020190>.

- Keast, A., y Riley, T. V. (1997). Identification of *Vibrio* spp. with the 'string' test. *Letters in Applied Microbiology*, 25, 106-108.
- Kobuszevska, A., y Wysok, B. (2024). Pathogenic Bacteria in Free-Living Birds, and Its Public Health Significance. *Animals*, 14(6), 968.
- Laviad-Shitrit, S., Lev-Ari, T., Katzir, G., Sharaby, Y., Izhaki, I. y Halpern, M. (2017). Great cormorants (*Phalacrocorax carbo*) as potential vectors for the dispersal of *Vibrio cholerae*. *Scientific Reports*. 7: 1-12.
- Lee, J. V., Shread, P., Furniss, A. L., y Bryant, T. N. (1981). *Vibrio furnissii* (formerly aerogenic biogroup of *Vibrio fluvialis*), a new species isolated from human feces and the environment. *Journal of Clinical Microbiology*, 14(1), 48-52.
- Literak, I., Kulich, P., Robesova, B., Adamik, P., y Roubalova, E. (2010). Avipoxvirus in great tits (*Parus major*). *European Journal of Wildlife Research*, 56(4), 529-534. <https://doi.org/10.1007/s10344-009-0345-5>
- Livermore, D. M. (2003). Bacterial resistance: origins, epidemiology, and impact. *Clinical Infectious Diseases*, 36(S1), S11-S23. <https://doi.org/10.1086/344654>
- MacFaddin, J. F. (2003). Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. 3ed, Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires-Argentina, 850 pp.
- Malbrán, C. (2010). *Manual de procedimientos. Pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en Vibrio cholerae*. Buenos Aires, Argentina. <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2013/03/Manual-de-Pruebas-de-Sensibilidad-Vibrio-cholerae-INEI-Malbr%C3%A1n-FINAL.pdf>
- Mariazza y Huamanchumo (2020). *Vibrio cholerae*: una revisión. *Boletín de Lima*. 42, N° 199.
- Mariazza, J. 2023. *Bacteriología*. Segunda edición. Primuscenter. 366pp.

- Mariazza, J., Agurto, T., y Huamanchumo, F. (2019). Aislamiento e identificación de *Vibrio cholerae* y otras especies de vibrios halofílicos patógenos a partir de varios reservorios acuáticos naturales en la zona de la bocana del río Lurín. *Boletín de Lima*. **41**: 107-122.
- Mariazza, J., Burger, L., Arenas, J., Burger, H. y Barrientos, J. (2006). Ecología del río Lurín en la zona de su desembocadura y su importancia médica. *Boletín de Lima*. **28**: 28-37.
- Mariazza, J., y Ríos, P. (2020). *Egretta caerulea* (“garza azul”) portadora intestinal de *Shewanella algae* (Shewanellaceae) y determinación de otro microbiota en heces de aves acuáticas en playa El Chaco-Paracas. *Boletín de Lima*. **42**: 127-136.
- Martínez, L., y López, J. (2018). Preferencias de hábitat de aves marinas en la costa del Pacífico. *Journal of Coastal Ecology*, 15 (2), 123-135.
- Martínez, L., Ruiz, C., y Morales, T. (2019). Eficacia de ciprofloxacino en el tratamiento de infecciones por *Salmonella* en humanos y animales. *Infectious Diseases Journal*, 31 (7).
- Martínez-Martínez, L., Pascual, A., y Jacoby, G. A. (2006). Quinolone resistance from a transferable plasmid. *The Lancet*, 348 (9039), 1394-1395. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(96\)04100-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(96)04100-8)
- Merizalde, D. (2020) *Importancia de los humedales, problemática en el Perú y alternativas de solución*. [Trabajo de investigación de pregrado, Universidad Científica del Sur].  
Repositorio Institucional Científica.  
<https://repositorio.cientifica.edu.pe/handle/20.500.12805/1413>
- Mendoza S, Tinoco O, Nieto K. (2016). Evaluación de la carga bacteriana y resistencia a antibióticos de bacterias aisladas en zonas marinas de alta influencia de producción larvaria en Ecuador. *Rev del Inst de Invest FIGMMG-UNMSM* 19 (38): 137-146.

- Ministerio del Ambiente del Perú (MINAM). (s.f.). *Fenómeno El Niño en el Perú y sus características*. <https://www.minam.gob.pe/fenomenodelnino/el-nino-en-el-peru-y-sus-caracteristicas/>
- Mota, L. (1996). *Farmacología Veterinaria* (1ra ed., pp. 50-51). México: Universidad Veracruzana.
- Noguerola, I., y Blanch, A. (2008). Identification of *Vibrio* spp. with a set of dichotomous keys. *Journal of applied microbiology*. **105**: 175-185.
- Ogg, J., Ryder, R., y Smith Jr. (1989). Isolation of *Vibrio cholerae* from aquatic birds in Colorado and Utah. *Appl. Environ. Microbiol.* **55**: 95-99.  
[https://scholar.google.com.pe/scholar?q=Isolation+of+Vibrio+cholerae+from+aquatic+birds+in+Colorado+and+Utah.+Appl.+Environ.+Microbiol&hl=es&as\\_sdt=0&as\\_vis=1&oi=scholar](https://scholar.google.com.pe/scholar?q=Isolation+of+Vibrio+cholerae+from+aquatic+birds+in+Colorado+and+Utah.+Appl.+Environ.+Microbiol&hl=es&as_sdt=0&as_vis=1&oi=scholar)
- Paterson, D. L., y Bonomo, R. A. (2005). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: a clinical update. *Clinical Microbiology Reviews*, *18* (4), 657-686. <https://doi.org/10.1128/CMR.18.4.657-686.2005>
- Podestá, J. y Alejandro Cotillo, (2016). Avifauna del área de conservación municipal humedal poza de la arenilla (Callao, Perú): actualización y categorías de conservación. *Científica* **13**: 38-57.
- Podestá, J., Cotillo, A., Segura-Cobeña, E. y Cabanillas, G. (2017). Variación temporal de la riqueza y abundancia de aves playeras limícolas en el humedal costero “poza de la arenilla”- La Punta, Callao. *The Biologist*. **15**: 23-35.

- Podestá, J., y Barona, D. (2021). Abundancia de aves playeras (Charadriiformes: Scolopacidae) y su relación con la temperatura del agua en un humedal de Perú (2013-2019). *Revista de Biología Tropical*. **69**: 1322-1332. <https://doi.org/10.15517/rbt.v69i4.4808>.
- Podestá, J., y Podestá, G. (2018). *Catálogo de Aves pescadoras. Humedal Costero "Poza de la Arenilla"*. La Punta-Callao. [https://www.academia.edu/42832232/Aves\\_pescadoras](https://www.academia.edu/42832232/Aves_pescadoras)
- ProNaturaleza (2010). Documento base para la elaboración de una estrategia de conservación de los humedales en la costa peruana. Lima: Pronaturaleza.
- Quiñones-Ramírez, E. I., Vázquez-Salinas, C., Pedroche, F. F., Moreno-Sepúlveda, L., y Rodas-Suárez, O. R. (2000). Presencia de los géneros *Vibrio* y *Salmonella*, y detección de coliformes fecales en almejas del Golfo de México. *Hidrobiológica*, 10 (2), 113-120. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0188-88972000000200008](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-88972000000200008)
- Rappole J., y Hubálek Z. (2003). Migratory birds and West Nile virus. *J. Appl. Microbiol.* 94: 47S–58S
- Rodríguez, J., López, P., Muñoz, J., Rodríguez, N., y Fuentes, J. (2008). *Pseudomonas* sp. en aves migratorias y residentes (Charadriiformes) en el estado Sucre, Venezuela. *SABER. Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente*, 20 (3), 277-282. Recuperado de Redalyc.
- Rodríguez, J., López, J., Muñoz, J. y Rodríguez, N. (2010). Detección de *Vibrio cholerae* no toxigénico en aves migratorias y residentes (Charadriiformes) en una laguna costera del nororiente de Venezuela. *Saber, Universidad de Oriente, Venezuela*. 22: 122-126. <https://www.redalyc.org/pdf/4277/427739444003.pdf>

- Rozen, Y., y Belkin, S. (2001). Survival of enteric bacteria in seawater. *FEMS microbiology reviews*, 25(5), 513-529.
- Ryan, K., y Ray, G. (2014). Microbiología de Sherris. Sexta edición. McGraw Hill. 820pp.
- Saino, N., Ambrosini, R., Rubolini, D., von Hardenberg, J., Provenzale, A., Hüppop, K., ... y Lehikoinen, E. (2011). Climate warming, ecological mismatch at arrival and population decline in migratory birds. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 278 (1707), 835-842.
- Sánchez, R., y Pérez, I. (2014). Cólera: historia de un gran flagelo de la humanidad. *Humanidades Médicas*. **14**: 547-569.
- Santa Cruz, F. (2023). *Presencia de bacterias patógenas en heces de aves acuáticas en el Humedal "La Arenilla", Callao*. [Tesis de pregrado, Universidad Ricardo Palma]. Repositorio Institucional URP. <https://repositorio.urp.edu.pe/entities/publication/1dec7069-89b0-438c-b74c-154d9e3a9e61>
- Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú [SENAMHI]. (2014). *El fenómeno El Niño en el Perú*. <https://repositorio.senamhi.gob.pe/bitstream/handle/20.500.12542/874/El-fen%C3%B3meno-El-ni%C3%B1o-en-el-Per%C3%BA.pdf>
- Schneider, N., y Miller, A. J. (2001). Predicting North Pacific Ocean climate. *Journal of Climate*, 14 (3), 399-410.
- Schulenberg, T., Stotza, D., Lane, F., O'neill, D. y Parker, T. (2010). Aves del Perú. Serie Biodiversidad Corbidi 01. Lima. 660 pp.
- Smith, A., y Jones, B. (2012). Impacto del cambio climático en la distribución de aves marinas. *Marine Biology Research*, 30(4), 211-226.

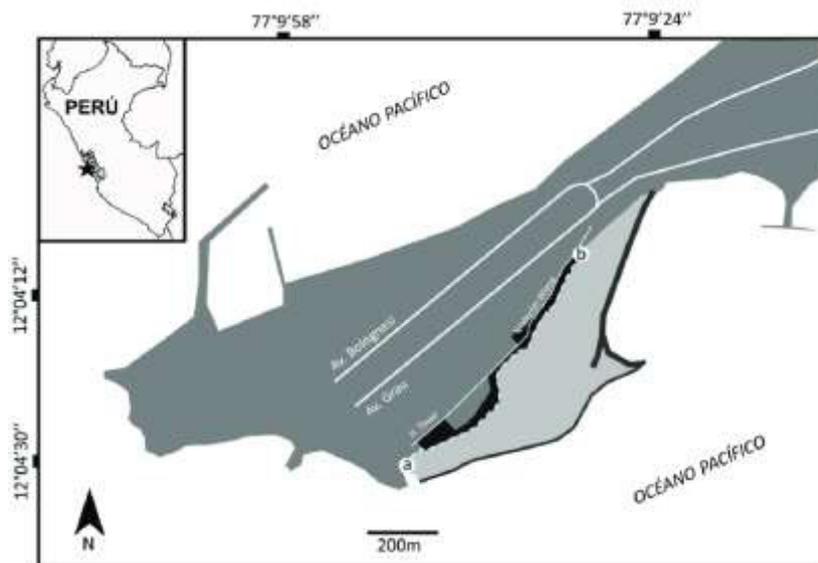
- Sorescu, I. y Stoica, C. (2021). Online Advanced Bacterial Identification Software, an original tool for phenotypic bacterial identification. *Rom Biotechnol Lett.* **26**: 3047-3053.
- Stumm, W., y Morgan, J. J. (1981). *Aquatic Chemistry: Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters* (2ª ed.). Wiley-Interscience.
- Thomann, M. L. (2020). *Aves acuáticas - Tipos, características, nombres y ejemplos*. <https://www.expertoanimal.com>
- Thompson, J., Randa, M., Marcelino, L., Tomita-Mitchell, A., Lim, E., y Polz, M. (2004). Diversity and dynamics of a North Atlantic coastal *Vibrio* community. *Applied and environmental microbiology*, **70**: 4103-4110.
- Trenberth, K. E. (1997). The Definition of El Niño. *Bulletin of the American Meteorological Society*, 78 (12), 2771-2777.
- Troll, J. (2000). *Evaluación y Ordenamiento Ambiental para el establecimiento de una Área Protegida en la Poza de La Arenilla, La Punta, Callao* (tesis de pregrado). Universidad Ricardo Palma, Perú.
- Uribe Botero, E. (2015). El cambio climático y sus efectos en la biodiversidad en América Latina.
- Velazco, F., y Solís, J. (2013). *Caracterización de los Sedimentos de la Poza La Arenilla Callao, Marzo 2004*. Informe Progresivo Instituto del Mar del Perú, 40:146–149. <https://repositorio.imarpe.gob.pe/handle/20.500.12958/2237>
- Vincent, C., Boerlin, P., Daignault, D., Dozois, C. M., Dutil, L., Galanakis, C., Reid-Smith, R. J., Tellier, P. P., Tellis, P. A., Ziebell, K., y Manges, A. R. (2010). Food reservoir for *Escherichia coli* causing urinary tract infections. *Emerging Infectious Diseases*, 16(1), 88-95. <https://doi.org/10.3201/eid1601.091118>

- Wang, Y., y Gu, J. (2005). Influence of temperature, salinity and pH on the growth of environmental *Aeromonas* and *Vibrio* species isolated from Mai Po and the Inner Deep Bay Nature Reserve Ramsar Site of Hong Kong. *Journal of Basic Microbiology: An International Journal on Biochemistry, Physiology, Genetics, Morphology, and Ecology of Microorganisms*, 45(1), 83-93.
- Winfield, M. D., y Groisman, E. A. (2003). Role of nonhost environments in the lifestyles of *Salmonella* and *Escherichia coli*. *Applied and environmental microbiology*, 69(7), 3687-3694.
- Yu, Y., Liu, X., Wang, Y., Liao, M., Tang, M., Rong, X., Wang, C., Li, B., y Zhang, Z. (2022). Resistencia a los antimicrobianos y características del genotipo de *Vibrio scopthalmi* aislado de intestinos de peces de maricultura enfermos con variabilidad interanual típica. *Frente. Mar. Sci.*, 9, 924130.
- Zayas-Tamayo, A. M., Barreras-García, G., y Marrero-Domínguez, K. (2013). Susceptibilidad a agentes antimicrobianos de cepas vacunales atenuadas de *Vibrio cholerae*. *Cenic*, vol (45), 94.
- Zamudio, M. L. (2005). *Confirmación de aislamientos de Vibrio mimicus del brote de intoxicación alimentaria en Cuncashca, Carhuaz*.
- Zhanel, G. G., Walters, M., Noreddin, A., Vercaigne, L. M., Wierzbowski, A., Embil, J. M., Gin, A. S., y Hoban, D. J. (2001). The ketolides: a critical review. *Drugs*, 61 (4), 443-498. <https://doi.org/10.2165/00003495-200161040-00004>
- Zheng, L., Zhu, L. W., Jing, J., Guan, J. Y., Lu, G. J., Xie, L. H., ... y Guo, X. J. (2021). Pan-genome analysis of *Vibrio cholerae* and *Vibrio metschnikovii* strains isolated from migratory birds at Dali Nouer Lake in Chifeng, China. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 638820.

## IX. ANEXOS

### Anexo A

*Mapa aéreo y vista parcial del humedal “Poza de la Arenilla”, La Punta.*



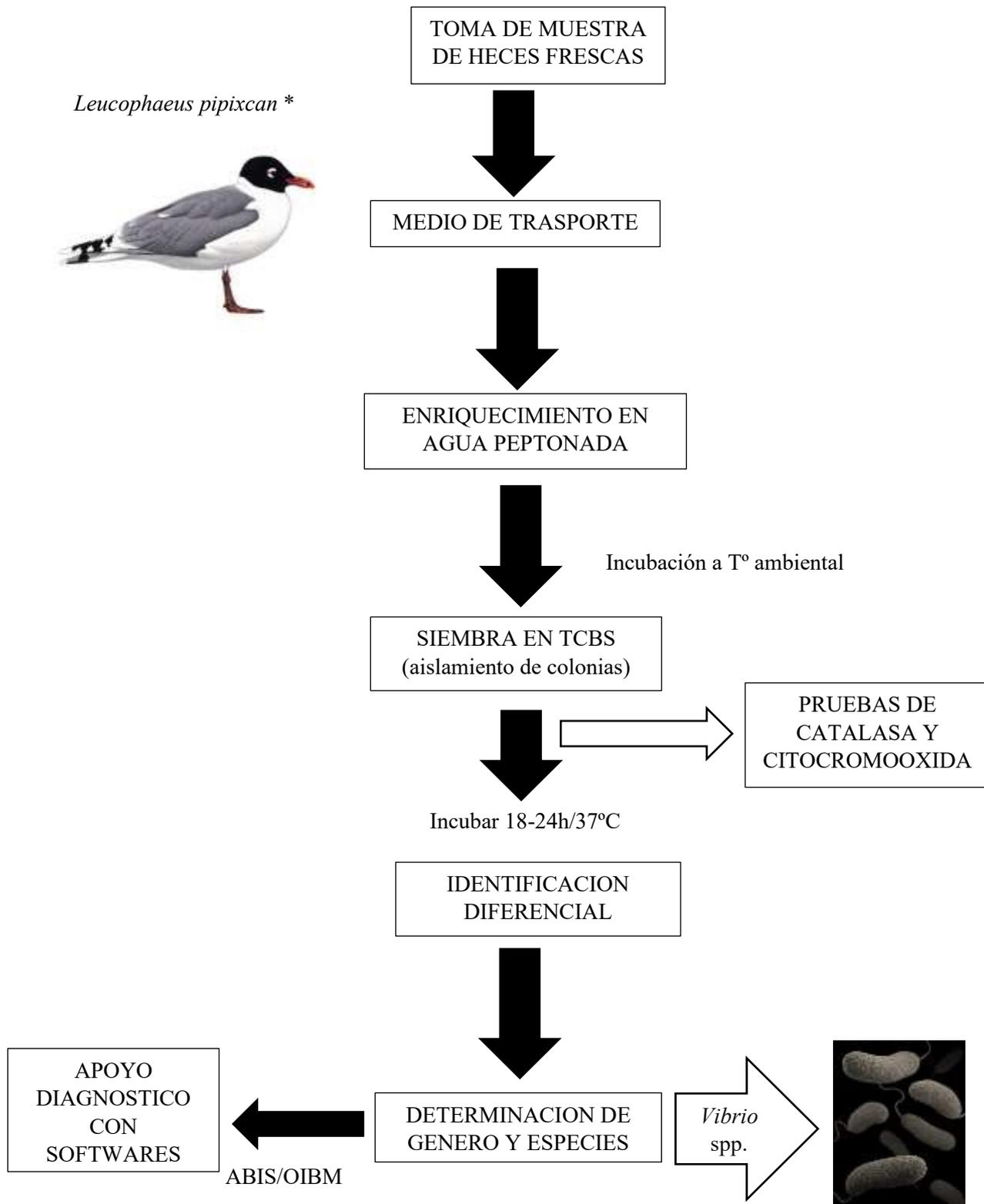
*Nota.* Ubicación de la zona de muestreo



*Nota.* Vista parcial del humedal costero “Poza de la Arenilla”

## Anexo B

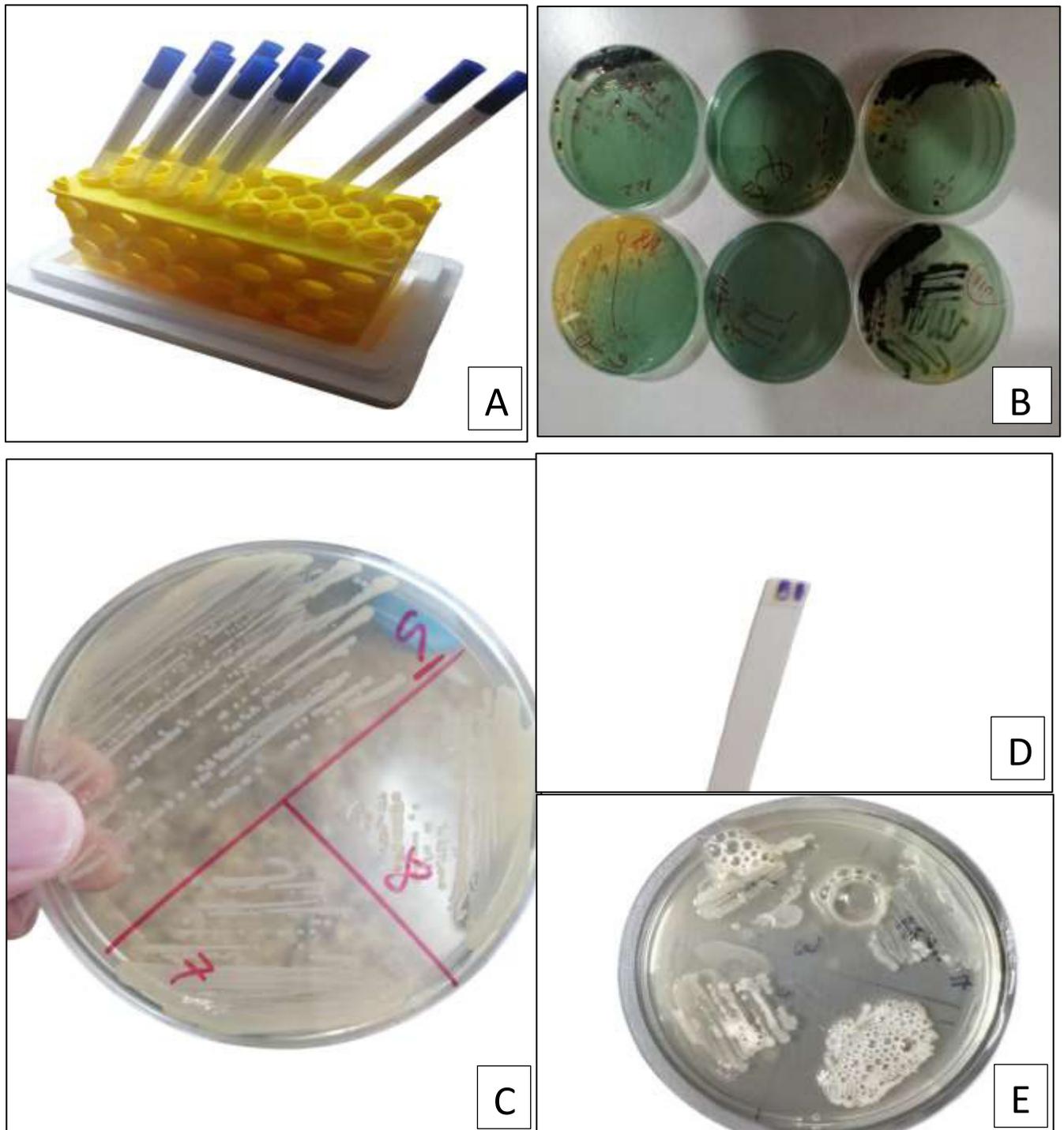
Flujograma para el aislamiento e identificación de *Vibrio* spp. En "Poza de la Arenilla", La Punta-Callao



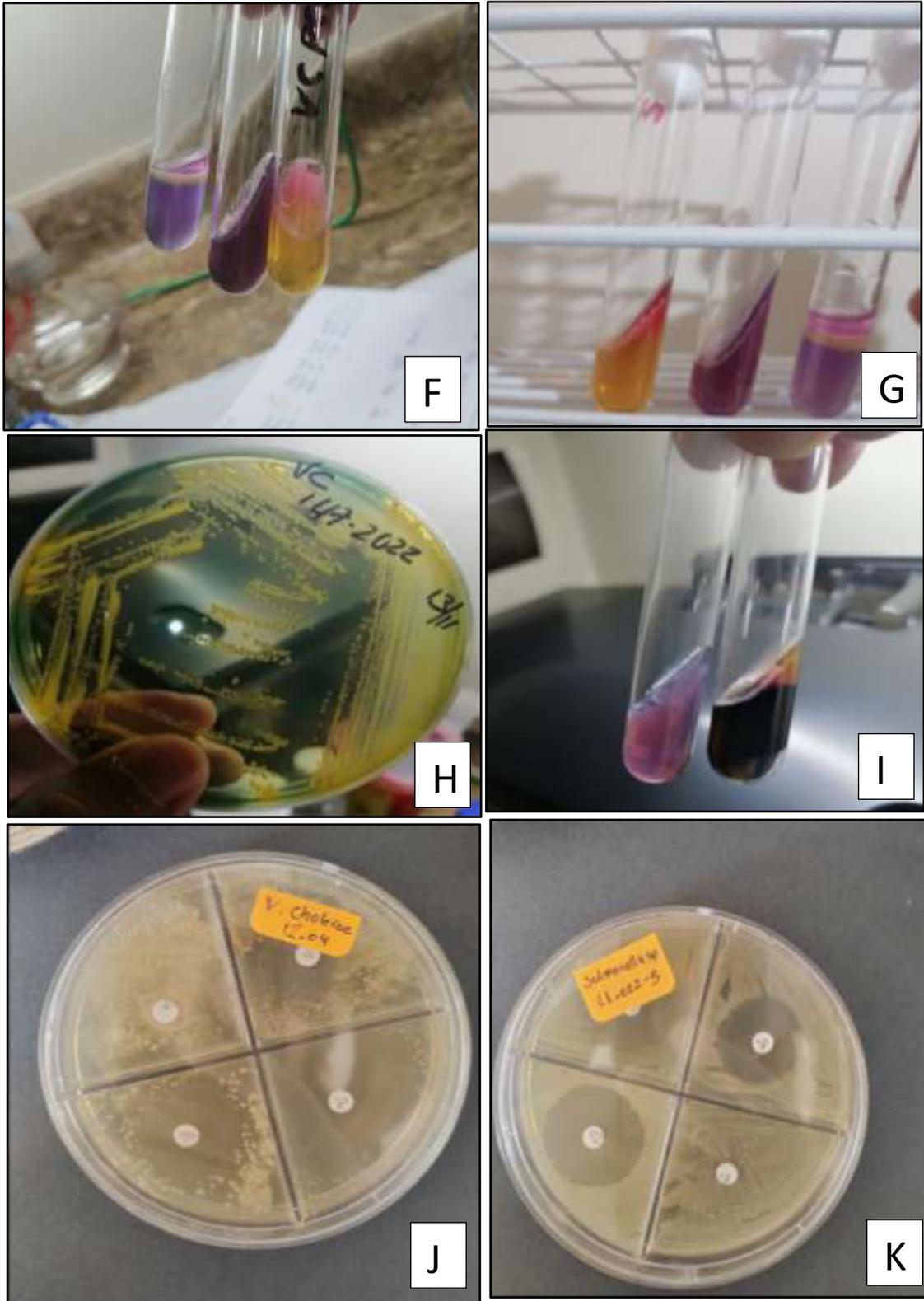
\* Fuente: SEO/BirdLife

## Anexo C

Fotografías del proceso de identificación de características y pruebas bioquímicas.



*Nota.* **A:** Gradilla de muestras recién colectadas en medio de transporte, **B:** Colonias presuntivas de *Vibrio* en agar TCBS (nótese también la flora acompañante), **C:** Cepas en Agar Tripticasa Soja, **D:** Prueba de oxidasa, **E:** Prueba de catalasa.



**Nota.** **F:** *Vibrio cholerae* cepa 147-2022 INS (control) en TSI, LIA, MIO, **G:** Resultados positivos para *V. cholerae*, **H:** Colonias en TCBS para *V. cholerae* (control), **I:** Prueba positiva en TSI y LIA para *Salmonella* sp., **J:** Antibiograma para *V. cholerae* cepa 035-2 resistente a cefotaxima, **K:** Antibiograma para *Salmonella* sp. resistente a azitromicina y ampicilina.



007	007-6	Creмосa	Sac -	+	+	K/K	-	-	K/K	+	-	+	+	<i>Burkholderia</i> ( <i>Pseudomonas</i> ) <i>cepacia</i>
008	008-7	Creмосa	Sac -	+	+	K/K	-	-	K/K	+	-	+	+	<i>B. (Pseudomonas)</i> <i>cepacia</i>
009	009-8	Creмосa	Sac -	+	+	K/K	-	-	K/K	+	-	+	+	<i>B. (Pseudomonas)</i> <i>cepacia</i>
	009-9	Creмосa	Sac -	+	+	K/K	-	-	K/K	+	-	+	+	<i>B. (Pseudomonas)</i> <i>cepacia</i>
	009-9A	Creмосa	Sac -	+	+	K/K	-	-	K/K	+	-	+	+	<i>B. (Pseudomonas)</i> <i>cepacia</i>
010	010-1	Creмосa	Sac -	+	+	K/K	-	-	K/K	+	-	+	+	<i>B. (Pseudomonas)</i> <i>cepacia</i>
	010-2	Creмосa	Sac -	+	+	K/K	-	-	K/K	+	-	+	+	<i>B. (Pseudomonas)</i> <i>cepacia</i>
	010-3	Creмосa	Sac -	+	+	K/K	-	-	K/K	+	-	+	+	<i>B. (Pseudomonas)</i> <i>cepacia</i>

*Nota.* Sac: Sacarosa; (+): positivo; (-): negativo; TCBS: Tiosulfato, Citrato, Bilis y Sacarosa; Ox: oxidasa; Cat: Catalasa; TSI: Triple sugar iron; LIA: Lysine Iron Agar; H<sub>2</sub>S: Hidrogeno sulfurado; Cit: citrato de Simmons; Ind: Indol; Mot: motilidad; Orn: ornitina; W: débil.

TABLA 11

## Segundo muestreo

PLACA	COLONIAS	TEXTURA/ASPECTO DE LA COLONIA	TCBS	OX	CAT	TSI	GAS	H2S	LIA	MOT	IND	ORN	CIT	GÉNERO/ESPECIE
011	011-1	Mucoide	Sac +	+	+	A <sup>R</sup> /A	-	+++	K/K	+	-	+	-	Biotipo indeterminado (ABIS) *
	011-2	Cremosa	Sac -	-	+	A/A	++	+++	K/A	+	-	+	-	<i>Citrobacter freundii</i>
	011-3	Cremosa	Sac -	+	+	A/A	++	+++	K/A	+	-	+	-	<i>C. freundii</i>
012	-	Sin crecimiento												
013	-	Sin crecimiento												
014	-	Sin crecimiento												
015	-	Sin crecimiento												
016	-	Sin crecimiento												
017	017-1	Translúcida	Sac -	-	+	K/A	++	+++	K/K	+	-	+	+	<i>Salmonella</i> sp.
	017-2	Translúcida	Sac -	-	+	K/A	++	+++	K/K	+	-	+	+	<i>S. sp.</i>
	017-3	Translúcida	Sac -	-	+	K/A	++	+++	K/K	+	-	+	+	<i>S. sp.</i>
018	018-1	Cremosa	Sac +	-	+	A/A	-	-	K/A	+	-	-	+	<i>C. freundii</i>
	018-2	Cremosa	Sac +	-	+	A/A	-	-	K/A	+	-	-	+	<i>C. freundii</i>
	018-3	Cremosa	Sac +	-	+	A/A	-	-	K/A	+	-	-	+	<i>C. freundii</i>
	018-4	Cremosa	Sac +	-	+	A/A	-	-	K/A	+	-	-	+	<i>C. freundii</i>
	018-5	Cremosa	Sac +	-	+	A/A	++	+++	K/A	+ <sup>w</sup>	-	-	+	<i>C. freundii</i>
	018-6	Cremosa	Sac -	-	+	A/A	+	+++	K/A	+ <sup>w</sup>	-	-	+	<i>C. freundii</i>
019	-	Sin crecimiento												
020	020-1	Cremosa	Sac +	-	+	A/A	++	++	K/K	+	-	+ <sup>w</sup>	-	<i>S. sp.</i>
	020-2	Cremosa	Sac +	-	+	A/A	++	++	K/K	+	-	+	-	<i>S. sp.</i>
021	021-1	Cremosa	Sac -	+	+	K/K	-	++++	N/N	+ <sup>w</sup>	-	N/N	-	<i>Shewanella algae</i>
	021-2	Cremosa	Sac -	+	+	A <sup>R</sup> /A	++	-	K/K	+	-	+	+	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
	021-3	Cremosa	Sac +	+	+	K/K	-	++++	N/N	+ <sup>w</sup>	-	N/N	+	<i>Shewanella algae</i>
	021-4	Cremosa	Sac -	+	+	K/A	-	-	K/K	+	-	-	+	<i>Vibrio fischeri</i>
022	022-1	Mucoide	Sac -	-	+	K/A	-	-	R/A	+ <sup>w</sup>	+	-	+	<i>Proteus mirabilis</i>
	022-2	Mucoide	Sac -	-	+	K/A	-	-	R/A	+ <sup>w</sup>	+	-	+	<i>P. mirabilis</i>
	022-3	Mucoide	Sac -	-	+	K/A	-	-	R/A	+ <sup>w</sup>	+	-	+	<i>P. mirabilis</i>
	022-4	Mucoide	Sac -	-	+	K/A	-	-	R/A	W+	+	-	+	<i>P. mirabilis</i>
	022-5	Cremosa	Sac -	-	+	A/A	++	+++	K/K	+	-	-	+	<i>S. sp.</i>

022-6	Mucoide	Sac -	-	+	K/A	-	-	R/A	+ <sup>ww</sup>	-	-	+	<i>P. vulgaris</i>
022-7	Cremosa	Sac +	-	+	A/A	+++	+++	K/A	+	-	-	+	<i>C. freundii</i>

*Nota.* Sac: Sacarosa; (+): positivo; (-): negativo; TCBS: Tiosulfato, Citrato, Bilis, Sacarosa; Ox: oxidasa; Cat: Catalasa; TSI: Triple sugar iron; LIA: Lysine Iron Agar; H<sub>2</sub>S: Hidrogeno sulfurado; Cit: citrato de Simmons; Ind: Indol; Mot: motilidad; Orn: ornitina; W: débil, WW: sumamente; \* se empleó el software ABIS online.

**TABLA 12**

*Tercer muestreo*

PLACA	COLONIAS	TEXTURA/ASPECTO DE LA COLONIA	TCBS	OX	CAT	TSI	GAS	H2S	LIA	MOT	IND	ORN	CIT	GÉNERO/ESPECIE
023	023-1	Mucoide	Sac +	+	+	A/A	-	-	K/K	-	-	-	-	<i>Vibrio fischeri</i>
	023-2	Mucoide	Sac +	+	+	A/A	-	-	K/K	+ <sup>w</sup>	-	+ <sup>w</sup>	-	<i>V. logei</i>
	023-3	Cremosa	Sac -	-	+	K/A	+++	++	K/A	+	-	-	+	<i>Citrobacter freundii</i>
024	024-1	Mucoide	Sac +	-	+	A/A	-	-	K/K	-	-	-	-	<i>Escherichia coli (inactiva)</i>
	024-2	Mucoide	Sac +	+	+	A/A	-	-	Inerte	Inerte	Inerte	-	-	Biotipo indeterminado (ABIS)
025	025-1	Mucoide	Sac +	+	+	A/A	-	-	K/K	Atípico	-	Atípico	-	Biotipo indeterminado (ABIS)
	025-2	Mucoide	Sac +	+	+	A <sup>R</sup> /A	++	-	K/K	+	-	-	+	<i>V. furnissii</i>
	025-3	Mucoide	Sac +	+	+	A <sup>R</sup> /A	++	-	K/K	+	-	-	+	<i>V. furnissii</i>
026	-	Sin crecimiento												
027	027-1	Cremosa	Sac -	+	+	A/A	-	-	K/K	+	+	+	-	<i>V. logei</i>
	027-2	Cremosa	Sac -	+	+	A/A	-	-	K/K	+	+	+	-	<i>V. logei</i>

028	028-1	Creмосa	Sac -	+	+	K/A	-	-	A/A	-	-	-	-	<i>V. salmonicida</i>
	028-2	Creмосa	Sac -	W+	+	A <sup>R</sup> /A	-	-	A/A	+ <sup>w</sup>	-	-	-	<i>V. salmonicida</i>
	028-3	Creмосa	Sac -	+	+	A <sup>R</sup> /A	-	-	A/A	-	-	-	-	<i>V. salmonicida</i>
029	029-1	Creмосa	Sac +	+	+	A <sup>R</sup> /A	++	-	K/K	+	-	-	+	<i>V. furnissii</i>
	029-2	Creмосa	Sac +	+	+	A <sup>R</sup> /A	++	-	K/K	+	-	-	-	<i>V. damsela</i>
030	-	Sin crecimiento												
031	031-1	Creмосa	Sac +	+	+	A <sup>R</sup> /A	+++	-	K/K	+	-	-	+	<i>V. furnissii</i>
	031-2	Creмосa	Sac +	+	+	A <sup>R</sup> /A	+++	-	K/K	+	-	-	+	<i>V. furnissii</i>
	031-3	Creмосa	Sac +	+	+	A <sup>R</sup> /A	+++	-	K/K	+	-	-	+	<i>V. furnissii</i>
032	032-1	Creмосa	Sac -	-	+	K/A	+	-	R/A	-	-	-	-	<i>Proteus sp.</i>
	032-2	Creмосa	Sac -	-	+	K/A	+	-	R/A	+ <sup>w</sup>	-	-	-	<i>Proteus sp.</i>
	032-3	Mucoide	Sac +	-	+	A/A	-	-	K/K	-	-	-	-	<i>V. fischeri</i>
033	033-1	Creмосa	Sac +	+	+	A <sup>R</sup> /A	+++	-	K/K	+	-	-	+	<i>V. furnissii</i>
	033-2	Creмосa	Sac +	+	+	A <sup>R</sup> /A	++++	-	K/K	+	-	+	+	<i>V. furnissii</i>
	033-3	Creмосa	Sac +	+	+	A <sup>R</sup> /A	++	-	K/K	+	-	+	+	<i>V. furnissii</i>
034	034-1	Mucoide	Sac+	+	+	A/A	-	-	K/K	-	-	-	-	<i>V. fischeri</i>
	034-2	Mucoide	Sac+	+	+	A/A	-	-	K/K	-	-	-	-	<i>V. fischeri</i>
	034-3	Mucoide	Sac+	+	+	A/A	-	-	K/K	-	-	-	-	<i>V. fischeri</i>
	034-4	Mucoide	Sac+	+	+	A/A	-	-	Atípico	-	-	-	-	Biotipo indeterminado (ABIS)

*Nota.* Sac: Sacarosa; (+): positivo; (-): negativo; TCBS: Tiosulfato, Citrato, Bilis y Sacarosa; Ox: oxidasa; Cat: Catalasa; TSI: Triple sugar iron; LIA: Lysine Iron Agar; H<sub>2</sub>S: Hidrogeno sulfurado; Cit: citrato de Simmons; Ind: Indol; Mot: motilidad; Orn: ornitina; W: débil; R, reversión de pico.



<b>043</b>	-	Sin crecimiento												
<b>044</b>	-	Sin crecimiento												
<b>045</b>	-	Sin crecimiento												
<b>046</b>	-	Sin crecimiento												
<b>047</b>	-	Sin crecimiento												
<b>048</b>	-	Sin crecimiento												
<b>049</b>	-	Sin crecimiento												
<b>050</b>	050-1	Cremosa	Sac -	+	+	A <sup>R</sup> /A	-	-	K/K	+	+	-	-	<i>V. hollisae</i>
	050-2	Cremosa	Sac -	+	+	A <sup>R</sup> /A	-	-	K/K <sup>W</sup>	-	-	-	-	<i>V. fischeri</i>
	050-3	Cremosa	Sac -	+	+	A <sup>R</sup> /A	-	-	K/K	+ <sup>w</sup>	+	-	-	<i>V. hollisae</i>
	050-4	Cremosa	Sac -	+	+	K/A	-	-	K/K <sup>W</sup>	-	-	-	-	<i>V. fischeri</i>

*Nota.* Sac: Sacarosa; (+): positivo; (-): negativo; TCBS: Tiosulfato, Citrato, Bilis y Sacarosa; Ox: oxidasa; Cat: Catalasa; TSI: Triple sugar iron; LIA: Lysine Iron Agar; H<sub>2</sub>S: Hidrógeno sulfurado; Cit: citrato de Simmons; Ind: Indol; Mot: motilidad; Orn: ornitina; W: débil; R, reversión de pico.