

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
FACULTAD DE INGENIERÍA PESQUERA Y CIENCIAS DEL
MAR



**Nivel de microorganismos patógenos e indicadores de
contaminación fecal en *Prionotus stephanophrys* (falso volador)
comercializados en la región Tumbes, 2023**

TESIS

Para optar el título profesional de Ingeniero Industrial Pesquero

Autora: Br. Stefani Lucero Paredes Becerra
Autor: Br. Cristhofer Joel Villar Cruz

Tumbes, 2025

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
FACULTAD DE INGENIERÍA PESQUERA Y CIENCIAS DEL
MAR



**Nivel de microorganismos patógenos e indicadores de
contaminación fecal en *Prionotus stephanophrys* (falso volador)
comercializados en la región Tumbes, 2023**

Tesis aprobada en forma y estilo por:

Dra. Enedia Graciela Vieyra Peña

PRESIDENTE

Mg. María Zoraida Ubillus Bravo

SECRETARIA

Dra. Tessy Peralta Ortiz

VOCAL

Tumbes, 2025

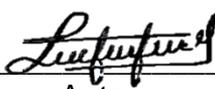
UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
FACULTAD DE INGENIERÍA PESQUERA Y CIENCIAS DEL
MAR



**Nivel de microorganismos patógenos e indicadores de
contaminación fecal en *Prionotus stephanophrys* (falso volador)
comercializados en la región Tumbes, 2023**

Los suscritos declaramos que la tesis es original en su contenido y
forma:

Br. Stefani Lucero Paredes Becerra
ORCID: 0009-0005-6160-8188


Autora

Br. Cristhofer Joel Villar Cruz
ORCID: 0009-0009-3325-8896


Autor

Dra. Tessy Peralta Ortiz
ORCID: 0000-0001-5907-7713


Dra. Tessy Peralta Ortiz
<https://orcid.org/0000-0001-5907-7713>
Docente Asesora

Dr. Alberto Ordinola Zapata
ORCID: 0000-0002-9644-0531


Dr. Alberto Ordinola Zapata
<https://orcid.org/0000-0002-9644-0531>
Docente Co-asesor

Mg. John Estuardo Sandoval Ramayoni
ORCID: 0000-0002-9928-5805


Mg. John Estuardo Sandoval Ramayoni
ORCID: 0000-0002-9928-5805
Docente Co-asesor

Tumbes, 2025

ACTA DE SUSTENTACIÓN



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
VICERRECTORADO ACADEMICO
FACULTAD DE INGENIERIA PESQUERA Y CIENCIAS DEL MAR

"Año de la Recuperación y Consolidación de la Economía Peruana"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En Tumbes, a los veintiocho días del mes enero del dos mil veinticinco, siendo las catorce horas, en el aula N° 6 de la Facultad de Ingeniería Pesquera y Ciencias del Mar, se reunieron el Jurado Calificador de la Facultad de Ingeniería Pesquera y Ciencias del Mar de la Universidad Nacional de Tumbes, designado por Resolución N° 022-2023/UNTUMBES-FIPCM-D, Dra. ENEDIA GRACIELA VIEYRA PEÑA (Presidente), Mg. MARIA ZORAIDA UBILLUS BRAVO, (Secretaria) y Dra. TESSY PERALTA ORTIZ, (Vocal), reconociendo en la misma resolución además, a la Dra. TESSY PERALTA ORTIZ como asesora y como coasesores al Dr. ALBERTO ORDINOLA ZAPATA (Código ORCID N° 0000-0002-9644-0531) y Mg. JOHN ESTUARDO SANDOVAL RAMAYONI (Código ORCID N° 0000-0002-99928-5805), se procedió a evaluar, calificar y deliberar la sustentación de la tesis, titulada: "Nivel de microorganismos patógenos e indicadores de contaminación fecal en *Prionotus stephanophrys* (falso volador) comercializados en la región Tumbes, 2023", para optar el Título Profesional de INGENIERO INDUSTRIAL PESQUERO, presentado por los: Br. Stefani Lucero Paredes Becerra y Br. Cristhofer Joel Villar Cruz.

Concluida la sustentación y absueltas las preguntas, por parte del (la) sustentante y después de la deliberación, el jurado según el artículo N° 75 del Reglamento de Tesis de la Universidad Nacional de Tumbes, declara a los:

Br. STEFANI LUCERO PAREDES BECERRA, *Aprobada*..., con calificativo *Sobresaliente*.....

Br. CRISTHOFFER JOEL VILLAR CRUZ *Aprobada*..., con calificativo *Sobresaliente*.....

Se hace conocer a los sustentantes, que deberán levantar las observaciones finales hechas al informe final de tesis, que el Jurado le indica.

En consecuencia, quedan *Aptos*..... para continuar con los trámites correspondientes a la obtención del título profesional de Ingeniero Industrial Pesquero, de conformidad con lo estipulado en la Ley Universitaria N° 30220, el Estatuto, Reglamento General, Reglamento General de Grados y Títulos y Reglamento de Tesis de la Universidad Nacional de Tumbes.

Siendo las *14* horas y *45* minutos del mismo día, se dio por concluida la ceremonia académica, procediendo a firmar el acta en presencia del público asistente.

Tumbes, 28 de enero 2025.


Dra. ENEDIA GRACIELA VIEYRA PEÑA
DNI N° 00217076
Código ORCID N° 0000-0001-6541-7075
Presidente


Mg. MARIA ZORAIDA UBILLUS BRAVO
DNI N° 45121172
Código ORCID N° 0000-0001-8133-5387
Secretaria


Dra. TESSY PERALTA ORTIZ
DNI N° 00239540
Código ORCID N° 0000-0001-5907-7713
Vocal

cc.

- Jurados (03)
- Asesora: Dra. Tessa Peralta Ortiz
- Interesados (02)

- Co-asesores: Dr. Alberto Ordinola Zapata y Mg. John E. Sandoval Ramayoni
- Archivo (Decanato)

OAMN/Decano
Bertha R.

informe de tesis Villar Cruz y Paredes Becerra

INFORME DE ORIGINALIDAD

13%

INDICE DE SIMILITUD

13%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

4%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.untumbes.edu.pe Fuente de Internet	8%
2	Submitted to Universidad Nacional de Tumbes Trabajo del estudiante	1%
3	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
4	www.fps.org.mx Fuente de Internet	<1%
5	oldri.ues.edu.sv Fuente de Internet	<1%
6	www.repositorio.usac.edu.gt Fuente de Internet	<1%
7	Juana Inés Machuca-Guevara, Erick Antonio Suárez-Peña, Emmerik Motte Darricau, Eric Louis Mialhe-Matonnier. "Caracterización molecular de los microorganismos presentes durante el proceso fermentativo de los	<1%

Dra. Tessy Peralta Ortiz
<https://orcid.org/0000-0001-5907-7713>
Docente Asesora

granos de cacao (*Theobroma cacao*)", Revista
Peruana de Biología, 2019

Publicación

8	pdffox.com Fuente de Internet	<1 %
9	repositorio.unp.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
10	cybertesis.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
11	www.mdpi.com Fuente de Internet	<1 %
12	repositorio.unal.edu.co Fuente de Internet	<1 %
13	www.jove.com Fuente de Internet	<1 %
14	repositorio.unas.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
15	repositorio.unheval.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
16	worldwidescience.org Fuente de Internet	<1 %
17	www.aquahoy.com Fuente de Internet	<1 %


Dra. Tessy Peralta Ortiz
<https://orcid.org/0000-0001-5907-7713>
Docente Asesora

18 Submitted to Universidad Nacional Mayor de San Marcos <1 %
Trabajo del estudiante

19 fdocuments.net <1 %
Fuente de Internet

20 repositorio.unj.edu.pe <1 %
Fuente de Internet

21 Espinosa Velez, Maria Paula. "Planeamiento Estrategico del Sector Acuicultor en el Peru.", Pontificia Universidad Catolica del Peru - CENTRUM Catolica (Peru), 2020 <1 %
Publicación

22 idoc.pub <1 %
Fuente de Internet

Excluir citas Activo

Excluir coincidencias < 15 words

Excluir bibliografía Activo



Dra. Tessy Peralta Ortiz
<https://orcid.org/0000-0001-5907-7713>

Docente Asesora

DEDICATORIA

Este informe va dedicado primeramente a mi Padre Celestial, por haberme dado la vida y por proporcionarme las fuerzas necesarias en todo momento para seguir esforzándome en mi vida profesional.

A mis padres y mi hermano, quienes siempre me brindaron su apoyo. En especial a mi madre Elizabeth Cruz Morán de quien aprendí que la lucha y perseverancia permiten lograr los objetivos trazados en la vida, y que cada objetivo logrado nutre a la persona en el aspecto moral, social y profesional, contribuyendo de esta manera al crecimiento de nuestra sociedad y país.

A mis tíos, abuelos y amigos quienes siempre están conmigo brindándome sus consejos incondicionales, y motivándome a superarme cada día.

Cristhofer Joel Villar Cruz

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación está dedicado a Dios, por guiarme e iluminar mi camino, por ayudarme a transformar los obstáculos en grandes enseñanzas.

A mi querida madre Dalia, a mis abuelitos Oscar y Cleofe por sus consejos, su apoyo incondicional, que constituyen la fuerza y razón que me impulsan a seguir adelante para hacer realidad mis sueños trazados.

A mis hermanas Yulissa, Fiorella y Nicole y a mis tíos Cristhiam y Luis, por motivarme y estar presentes en cada paso que he dado en mi vida profesional.

Stefani Lucero Paredes Becerra

AGRADECIMIENTO

Casi al finalizar esta aventura, es grato agradecer a quienes aportaron para que pudiéramos culminar nuestra tesis:

Agradecemos a nuestra asesora, Dra. Tessy Peralta Ortiz por ser una gran maestra, además por apoyarnos en nuestra tesis y por sus valiosos consejos, y al Dr. Alberto Ordinola Zapata por su constante apoyo en cada observación, así como por ayudarnos a mejorar nuestra tesis, es un excelente docente por su forma de enseñar y por guiarnos en el camino correcto y fortalecernos académicamente; también al Mg. John Estuardo Sandoval Ramayoni, por su constante apoyo brindado, su amabilidad y su constancia por compartir su enseñanza, que ayudaron en la elaboración del presente informe final de tesis, que nos permitirá lograr una nueva meta en nuestra formación profesional.

A la Dra. Enedia Graciela Vieyra Peña, por brindarnos información que nos servirá en el ámbito profesional; por ser una excelente amiga para nosotros, por lo que expresamos a ella nuestra estima personal.

A la Mg. María Zoraida Ubillus Bravo, por ser una buena maestra, gracias por sus enseñanzas constantes, apoyo y consejos.

Al laboratorista Pedro Masías Ramírez, un gran profesional, amigo y por su apoyo durante la ejecución de nuestra tesis.

A la Ing. Nicole Alessandra Vergara Alfaro, al Mg. Robert Peralta Otero, a la Mg. Yeni Seminario Yamunaque y al Ing. Wagner Paul Campaña Maza, por su apoyo permanente en la ejecución de nuestra tesis.

A todos los docentes de la Facultad de Ingeniería Pesquera y Ciencias del Mar de la Universidad Nacional de Tumbes, por su gran esfuerzo para lograr que cada uno de nosotros, sus estudiantes, estemos lo mejor preparados para afrontar el mundo laboral.

ÍNDICE

	Pág.
Resumen.....	xvii
Abstract.....	xviii
I. INTRODUCCIÓN.....	19
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	22
2.1. <i>Prionotus stephanophrys</i>	22
2.2. Bacterias patógenas e indicadoras de contaminación fecal.....	22
2.3. Coliformes fecales.....	23
2.4. <i>Escherichia coli</i>	23
2.5. <i>Vibrio cholerae</i>	24
2.6. <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	24
2.7. <i>Salmonella</i> spp.....	24
2.8. Plan de evaluación para análisis microbiológicos.....	25
2.9. Investigaciones relacionadas.....	25
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
3.1. Métodos.....	28
3.1.1. Lugar y periodo de ejecución de la investigación.....	28
3.1.2. Población y muestra de estudio.....	28
3.1.3. Obtención de falso volador <i>Prionotus stephanophrys</i>	28
3.1.4. Registro de peso y longitud total.....	29
3.1.5. Limpieza de <i>P. stephanophrys</i>	29
3.1.6. Extracción de tejido de <i>Prionotus stephanophrys</i> y pesado de la muestra.....	29
3.1.7. Preparación de solución butterfield.....	30
3.1.8. Preparación de agua peptonada tamponada.....	30
3.1.9. Procedimiento para la detección de <i>E. coli</i>	30
3.1.10. Procedimiento para la detección de <i>Salmonella</i> spp.....	32
3.1.11. Procedimiento para la detección de <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	32
3.1.12. Procedimiento para la detección de <i>Vibrio cholerae</i>	34
3.1.13. Tinción de gram.....	35
3.1.14. Procedimiento para la identificación molecular.....	35
3.1.15. Procesamiento y análisis de datos.....	38

IV.	RESULTADO Y DISCUSIÓN.....	39
4.1.	Peso y longitud total de <i>Prionotus stephanophrys</i>	39
4.2.	Nivel de coliformes totales	40
4.3.	Nivel de coliformes fecales.....	42
4.4.	Nivel de <i>Escherichia coli</i>	43
4.5.	Nivel de <i>Salmonella</i> spp.....	45
4.6.	Nivel de <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	46
4.7.	Nivel de <i>Vibrio cholerae</i>	47
4.8.	Caracterización morfológica y molecular de las cepas aisladas de <i>Prionotus stephanophrys</i>	49
V.	CONCLUSIONES	51
VI.	RECOMENDACIONES.....	53
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54

ÍNDICE DE TABLAS

Pág.

Tabla 1. Límites de tolerancia en mínimos y máximos permisibles para <i>Escherichia coli</i> en recursos hidrobiológicos frescos	25
Tabla 2. Volumen de reactivos para preparar el mix necesario para la reacción de la PCR	36
Tabla 3. Peso y longitud total (media \pm desviación estándar) de <i>Prionotus stephanophrys</i> adquiridos en los puntos de desembarque de Tumbes	39
Tabla 4. Peso y longitud total (media \pm desviación estándar) de <i>Prionotus stephanophrys</i> adquiridas en los mercados de Tumbes	40
Tabla 5. Conteo de coliformes totales en falso volador adquirido en puntos de desembarques.....	41
Tabla 6. Conteo de coliformes totales en falso volador adquirido en Mercados .	41
Tabla 7. Conteo de tubos positivos de coliformes fecales en <i>Prionotus stephanophrys</i> por puntos de desembarque	42
Tabla 8. Conteo de tubos positivos de coliformes fecales en <i>Prionotus stephanophrys</i> por mercado.....	43
Tabla 9. Carga de <i>Escherichia coli</i> (NMP) en <i>Prionotus stephanophrys</i> obtenidos en puntos de desembarque de Tumbes.....	44
Tabla 10. Carga de <i>Escherichia coli</i> (NMP) en <i>Prionotus stephanophrys</i> obtenidos en mercados de Tumbes.....	45
Tabla 11. Carga de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> en <i>Prionotus stephanophrys</i> obtenidos en puntos de desembarque de Tumbes	46
Tabla 12. Carga de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> en <i>Prionotus stephanophrys</i> obtenidos en mercados de Tumbes	47
Tabla 13. Presencia de <i>Vibrio cholerae</i> en <i>Prionotus stephanophrys</i> obtenidos de puntos de desembarque de Tumbes.....	48

Tabla 14. Presencia de <i>Vibrio cholerae</i> en <i>Prionotus stephanophrys</i> obtenidos de mercados de Tumbes.....	48
Tabla 15. Morfología de las colonias e identificación molecular de cepas de coliformes fecales, <i>Escherichia coli</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> y <i>Vibrio cholerae</i> .	49
Tabla 16. Parámetros de calidad del ADN extraído mediante espectrometría	64
Tabla 17. Tabla ISO 7218: 2007 para establecer el NMP/g en base a tres diluciones	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de programación del termociclador para la amplificación	37
Figura 2. Obtención de los ejemplares de falso volador.....	65
Figura 3. Pesado y procesamiento inicial de <i>Prionotus stephanophrys</i>	65
Figura 4. Retiro de escamas en los ejemplares para extraer sus tejidos	66
Figura 5. Homogenización del tejido con solución Butterfield	66
Figura 6. Prueba presuntiva para coliformes y <i>E. coli</i>	66
Figura 7. Prueba confirmativa en medios sólidos.....	67
Figura 8. Prueba presuntiva de <i>Salmonella</i> spp.....	67
Figura 9. Detección de <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	68
Figura 10. Unidades formadoras de colonias confirmativas de coliformes fecales, <i>E. coli</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> y <i>Vibrio cholerae</i> puras en medio TSA	68
Figura 11. Observación microscópica aumentado a 1000 X de bacterias coliformes, <i>Escherichia coli</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> y <i>Vibrio cholerae</i> teñidas con tinción de Gram.	69
Figura 12. Extracción de ADN con el protocolo PBS 1X	69
Figura 13. Amplificación de un fragmento del gen 16S ARNr mediante PCR	70
Figura 14. Migración de amplicones en gel de agarosa de un fragmento del gen 16S ARNr de bacterias aisladas.....	70
Figura 15. Procesamiento de secuencias de ADN utilizando softwares de bioinformática.	71
Figura 16. Figura 16. Búsqueda de secuencias de ADN en bases de datos bioinformáticas para observar su descripción e identidad.....	71

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Parámetros de calidad del ADN extraído, evaluado mediante espectrofotometría.	64
Anexo 2. Fotografías de la ejecución de la tesis	65
Anexo 3. Tabla ISO 7218: 2007 para establecer el Numero más probable en gramos en base a tres diluciones.....	72

Nivel de microorganismos patógenos e indicadores de contaminación fecal en *Prionotus stephanophrys* (falso volador) comercializados en la región Tumbes, 2023

Br. Stefani Lucero Paredes Becerra¹
Br. Cristhofer Joel Villar Cruz¹
Dra. Tessy Peralta Ortiz²
Dr. Alberto Ordinola Zapata²
Mg. John Estuardo Sandoval Ramayoni³

RESUMEN

La investigación tuvo como objetivo determinar el nivel de microorganismos patógenos e indicadores de contaminación fecal en *Prionotus stephanophrys* (falso volador) comercializados en la región Tumbes en 2023 y 2024. Se adquirieron 90 ejemplares de falso volador en los que se determinó los niveles de coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli* y *Vibrio parahaemolyticus* mediante el método del número más probable (NMP). También se determinó la presencia o ausencia de *Salmonella* spp. y *Vibrio cholerae*. Adicionalmente se identificó molecularmente seis de las cepas aisladas. Los niveles de coliformes totales estuvieron entre 0,8 y 35 NMP/g y los de coliformes fecales entre 0,8 y 17 NMP/g, mientras que los de *E. coli* estuvieron en el rango establecido por la normatividad peruana (<10 NMP/g), con la excepción del Mercado Modelo de Tumbes, el cual sobrepasó el límite, con 17 NMP/g. No se detectó *Salmonella* spp. en ninguno de los ejemplares adquiridos en puntos de desembarque y mercados. En tanto que en su mayoría los peces tuvieron un nivel de *Vibrio parahaemolyticus* menor al límite establecido (3 NMP/g), con la excepción de los adquiridos en el Mercado Municipal Contralmirante Villar Zorritos, lugar en el que se detectó, en uno de los muestreos, un nivel de 3,1 NMP/g. *Vibrio cholerae* fue identificado de manera presuntiva en varias muestras obtenidas de las zonas de desembarque y mercados, sin embargo, no fue posible confirmar la identidad de tales cepas. Se identificaron molecularmente cuatro cepas bacterianas que correspondieron a *Providencia vermicola*, *Enterobacter kobei* y *Klebsiella pneumoniae*, todas ellas han sido reportadas como patógenas para el ser humano. Se concluye que el falso volador comercializado en puntos de desembarque y mercados en la región, provincia y distritos de Tumbes fue seguro para el consumidor cuando se adquirió en los puntos de desembarque, pero tuvo problemas respecto a su inocuidad en dos de los tres mercados evaluados, lo cual implica que probablemente su contaminación se produzca durante el proceso de manipulación que se da entre su desembarque y la venta final en el mercado.

Palabras clave: Inocuidad alimentaria, seguridad alimentaria, contaminación bacteriana, *Prionotus stephanophrys*, *Escherichia coli*.

¹ Estudiantes de la Escuela de Ingeniería Industrial Pesquera de la Universidad Nacional de Tumbes

² Profesores Principales de la Facultad de Ingeniería Pesquera y Ciencias del Mar de la Universidad Nacional de Tumbes

³ Profesor Asociado de la Facultad de Ingeniería Pesquera y Ciencias del Mar de la Universidad Nacional de Tumbes

Tesis presentada para obtener el título profesional de Ingeniero Industrial Pesquero

Universidad Nacional de Tumbes

Facultad de Ingeniería Pesquera y ciencias del mar

Escuela Académica Profesional de Ingeniería Industrial Pesquera

Calle Los Ceibos S/N Puerto Pizarro, Tumbes, Perú

¹ e-mail: 180301181@untumbes.edu.pe

² e-mail: cristhofervillar422@gmail.com

2024

Level of pathogenic microorganisms and fecal contamination indicators in *Prionotus stephanophrys* (false flyer) sold in the Tumbes region, 2023

Br. Stefani Lucero Paredes Becerra¹
Br. Cristhofer Joel Villar Cruz¹
Dra. Tessa Peralta Ortiz²
Dr. Alberto Ordinola Zapata²
Mg. John Estuardo Sandoval Ramayoni³

ABSTRACT

The aim of this research was to determine the level of pathogenic microorganisms and indicators of fecal contamination in *Prionotus stephanophrys* (lumptail searobin) marketed in the Tumbes region in 2023 and 2024. 90 specimens of lumptail searobin were acquired in which the levels of total coliforms, fecal coliforms, *Escherichia coli* and *Vibrio parahaemolyticus* were determined using the most probable number (MPN) method. The presence or absence of *Salmonella* spp. and *Vibrio cholerae* was also determined. Additionally, six of the isolated strains were molecularly identified. Total coliform levels ranged from 0.8 to 35 MPN/g and fecal coliform levels ranged from 0.8 to 17 MPN/g, while *E. coli* levels were within the range established by Peruvian regulations (<10 MPN/g), with the exception of the Mercado Modelo de Tumbes, which exceeded the limit with 17 MPN/g. *Salmonella* spp. was not detected in any of the specimens purchased at landing points or markets. Most fish had a *Vibrio parahaemolyticus* level below the established limit (3 MPN/g), with the exception of those purchased at the Mercado Municipal de Contralmirante Villar Zorritos, where a level of 3.1 MPN/g was detected in one of the samples. *Vibrio cholerae* was presumptively identified in several samples obtained from the landing areas and markets; however, it was not possible to confirm the identity of such strains. Four bacterial strains were molecularly identified that corresponded to *Providencia vermicola*, *Enterobacter kobei* and *Klebsiella pneumoniae*, all of them have been reported as pathogenic for humans. It is concluded that the false flyer sold at landing points and markets in the region, province and districts of Tumbes was safe for the consumer when it was purchased at the landing points, but it had problems regarding its safety in two of the three markets evaluated, which implies that its contamination probably occurs during the handling process that occurs between unloading and final sale in the market.

Keywords: Food safety, food security, bacterial contamination, *Prionotus stephanophrys*, *Escherichia coli*.

¹ Students of the Escuela de Ingeniería Industrial Pesquera of the Universidad Nacional de Tumbes

² Principal Professors of the Facultad de Ingeniería Pesquera y Ciencias del Mar of the Universidad Nacional de Tumbes

³ Associate Professor of the Facultad de Ingeniería Pesquera y Ciencias del Mar of the Universidad Nacional de Tumbes

Thesis presented to obtain the professional title of Industrial Fisheries Engineer

Universidad Nacional de Tumbes

Facultad de Ingeniería Pesquera y Ciencias del Mar

Escuela de Ingeniería Pesquera

Los Ceibos S/N Street, Puerto Pizarro, Tumbes, Peru

¹ e-mail: 180301181@untumbes.edu.pe

² e-mail: cristhofervillar422@gmail.com

2024

I. INTRODUCCIÓN

En el año 2018, la producción de pesca de recursos marinos a nivel mundial alcanzó los 84,4 millones de toneladas, siendo Perú el tercer país con mayor producción pesquera (Comisión de Promoción del Perú para la Exportación y el Turismo [Promperú], 2020)

La pesca marítima en el Perú se divide en pesca industrial y pesca artesanal siendo los departamentos de Piura, Lima e Ica los que concentran la mayor cantidad de embarcaciones artesanales (Medicina-Di-Paolo, 2014); el Ministerio de la producción (2010), ha indicado que en el mar peruano se hayan 1052 especies de peces marinos de las cuales aproximadamente 150 especies son utilizadas para consumo humano directo (CHD).

Estas especies llegan a los diferentes desembarcaderos pesqueros artesanales (DPA) en toda la costa del Perú. En la región Tumbes hay 3 DPA ubicados en Puerto Pizarro, Acapulco y Cancas, además cuenta con las zonas de caleta la Cruz, Grau y Zorritos en las cuales se desembarcan diversas especies marinas comerciales ofrecidas al mercado local y nacional.

Una de las principales especies reportadas por el Instituto del Mar del Perú [Imarpe] (2021) que se desembarcan en el departamento de Tumbes es la especie falso volador (*Prionotus stephanophrys*) con un total de 576,2 toneladas que provienen de los desembarcaderos de Puerto Pizarro, Acapulco y Cancas, así como de Puerto 25, Caleta La Cruz, Caleta Grau y Zorritos.

El falso volador (*Prionotus stephanophrys*) es un pez de aguas demersales que habita en los fondos con arena gruesa y fangosos, es comercializado en las tres provincias de la región de Tumbes y cuenta con amplia demanda en el mercado nacional (Lozada, 2020). Esta especie se procesa como filete congelado para su comercialización en la región de Tumbes, en los mercados de Zarumilla, Aguas verdes y Tumbes (Carquin, 2016). El fileteado del falso volador habitualmente se

hace en playa sobre mesas de madera sin la adecuada higiene y puede ser una fuente de contaminación del producto.

Además de este proceso inadecuado, otras prácticas incorrectas se dan en la captura, en el transporte del pescado por los intermediarios, así como en la comercialización final; lo cual podría comprometer la inocuidad del producto; entre estas prácticas inadecuadas se tiene la carencia de hielo y agua potable para la conservación y limpieza del producto, inadecuada manipulación del producto el cual es estibado en cajas sucias o directamente sobre el suelo, escaso control sanitario, falta de drenaje, venta en áreas cercanas a focos infecciosos y con olores desagradables.

Se debe tener en cuenta que al consumidor se debe ofrecer un producto inocuo, más aún cuando se trata de productos hidrobiológicos, que son altamente perecibles (Marín et al., 2009)

Los recursos del mar, pueden tener un nivel alto de contaminación microbiológica originada por las actividades antrópicas y por los vertimientos de aguas residuales (Haroun et al., 2005); la contaminación microbiológica es un asunto de alta importancia puesto que se ha reportado que hasta el 90% de las enfermedades originadas por el consumo de productos pesqueros son de tipo diarreicas e intestinales, originadas por microorganismos como bacterias y virus (Vergara, 2023).

Debido a lo antes indicado el Organismo Nacional de Sanidad Pesquera (Sanipes) ha implementado el manual “Indicadores Sanitarios y de Inocuidad para los Productos Pesqueros y Acuícolas para Mercado Nacional y de Exportación” aprobado mediante Resolución de Dirección Ejecutiva N° 057-2016-SANIPES-DE, en el cual se establecen valores límites para los niveles de las principales bacterias patógenas e indicadoras de contaminación fecal como son *Vibrio cholerae*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Escherichia coli* y aerobios mesófilos en peces de consumo humano directo (Sanipes, 2016).

Debido a que el falso volador es uno de los peces más consumidos por la población y que su tratamiento desde la captura hasta la venta final tiene una serie de problemas que podrían exponerlo a una contaminación microbiológica y dado que,

no se han encontrado reportes sobre la inocuidad microbiológica de dicho pez en la región Tumbes, sería conveniente evaluar el nivel de contaminación microbiológica que puede tener el falso volador determinando su carga de *E. coli*, *Salmonella* spp., *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio cholerae*.

Por ello, esta tesis tuvo el siguiente objetivo:

Determinar el nivel de *E. coli*, *Salmonella* spp., *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio cholerae* en falso volador (*Prionotus stephanophrys*) comercializado en fresco en los puntos de desembarque de Caleta Grau, La Cruz, Puerto Pizarro y los mercados de Zarumilla, Municipal Contralmirante Villar Zorritos y Mercado Modelo de Tumbes en el año 2023.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. *Prionotus stephanophrys*.

Entre los recursos bento demersales más importantes del Perú se encuentra el coco, la cabrilla, la merluza y el falso volador (*Prionotus stephanophrys*), estos recursos se caracterizan por vivir a profundidades medias que oscilan entre 50 a 300 metros en zonas con alto niveles de oxígeno que están asociados con el segmento meridional de la corriente de Cromwell (Díaz, 2017).

Prionotus stephanophrys es un recurso muy comercializado en la región tumbesina, que tiene una gran demanda a nivel local, regional y nacional, por lo que tiene importancia económica en la pesca artesanal (Pérez & Castañeda, 2018). El falso volador se distribuye en la plataforma continental desde el Mar de California en Estados Unidos hasta la costa norte de Chile, siendo muy abundante en el Perú (Global Biodiversity Information Facility [GBIF], 2023; Lozada, 2020)

El falso volador posiblemente podría estar contaminado por microorganismos patógenos o indicadores de contaminación fecal, puestos que otras especies de peces que se pescan conjuntamente con él, se ha demostrado que presentan contaminación microbiana tales como jurel, merluza entre otros (Carbajal et al., 2003a; Hernández et al., 2020; Navarro, 2017).

2.2. Bacterias patógenas e indicadoras de contaminación fecal.

El pescado es un producto cárnico muy perecedero, que puede ser afectado por diferentes microorganismos que originan descomposición y pueden alterar su inocuidad; entre ellos bacterias, hongos y virus. éstos pueden originar enfermedades transmitidas por el alimento (ETA) (Barba et al., 2020; Rabiela, 2015)

Los microorganismos que pueden afectar al pescado pueden proceder del propio cuerpo de agua como *Aeromonas* móviles, *Vibrio cholerae*, *Edwardsiella tarda*, *Plesiomonas shigelloides*, *Vibrio parahaemolyticus*; pero también, pueden proceder

de fuentes contaminadas por heces o por la manipulación inadecuada, entre estos microorganismos se tiene a *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. y *Staphylococcus aureus*, así como a bacterias indicadoras de contaminación fecal como son los coliformes fecales y *E. coli* (Herrera & Santos, 2005; Vergara, 2023)

2.3. Coliformes fecales.

Los coliformes son un grupo de bacterias de los animales de sangre caliente como los mamíferos y las aves; en general, son bacterias no patógenas pero su presencia en los alimentos indica la contaminación por heces; estas bacterias son pequeñas (3 a 6 μm), tienen forma bacilar, aunque en algunos casos también son cocoides o cocobacilares, crecen a temperaturas altas (35 a 44,5 °C), debido que su hábitat es en el interior de organismos de sangre caliente que presentan temperaturas relativamente altas. Una característica diferencial de estas bacterias es que tienen la capacidad de fermentar la lactosa produciendo gas. Los coliformes fecales incluyen cuatro géneros como son *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Escherichia*, de este último género, la especie *Escherichia coli* es la más representativa y la que le da el nombre al grupo (Vergara, 2023).

2.4. *Escherichia coli*

Escherichia coli es la especie más conocida en el grupo de coliformes fecales, es una bacteria Gram negativa, anaerobia facultativa y oxidasa negativa; como su hábitat es el intestino humano, a pesar de que no es patógena si puede indicar que existe presencia de posibles microorganismos patógenos que se hallan en el intestino tales como el virus de la hepatitis A y bacterias que ocasionan diarreas agudas. *E. coli* es capaz de crecer a temperatura entre los 15 °C a 45 °C, además puede soportar altas temperaturas entre 55 °C a 60 °C durante 60 minutos (Gamarra, 2020; Vergara, 2023).

E. coli es la especie más abundante de coliformes en el intestino de seres humanos, mamíferos y de aves; debido a su característica de fermentar la lactosa a alta temperatura (44,5 a 45,5 °C) es fácil de distinguir de otros coliformes fecales, por lo que es el microorganismo preferido por las legislaciones peruana, norteamericana y europea, para determinar la contaminación fecal en alimentos y

en agua (Comisión Europea, 2019; National Shellfish Sanitation Program [NSSP]), 2020; Quezada, 2023; Vergara, 2023).

2.5. *Vibrio cholerae*.

Esta especie está presente en ambientes acuáticos con salinidad moderada, es también un patógeno para el ser humano; existen aproximadamente 200 serogrupos que incluyen cepas toxigénicas y no toxigénicas, las primeras están relacionadas con la infección gastrointestinal conocida como cólera que se caracteriza por una diarrea profusa, que produce gran deshidratación y el desequilibrio de electrolitos en el paciente. Su transmisión se da por alimentos marinos o por el consumo de agua contaminada; *Vibrio cholerae* es común en aguas con alta contaminación y bajo nivel sanitario (Sánchez, 2020).

Vibrio cholerae se aísla en medios selectivos como el agar tiosulfato citrato bilis sacarosa (TCBS) así como en el medio selectivo cromogénico Hi Chrome; Las cepas de esta bacteria pueden ser sacarosa positivas y negativas. Esta especie también es identificada por pruebas bioquímicas y moleculares a través de la PCR y secuenciamiento (Tafur et al., 2019).

2.6. *Vibrio parahaemolyticus*.

Vibrio parahaemolyticus es una bacteria halófila, autóctona de ecosistemas marinos, que ingresa al organismo humano por el consumo de alimentos crudos o pocos cocidos y puede causar gastroenteritis grave, cuyos indicios son la diarrea o dolor abdominal, náuseas, vómitos y dolor de cabeza. Este patógeno es enteorotóxico, cardiotóxico y citóxico, la enfermedad que produce en humanos tiene un periodo de incubación entre 4 a 96 horas (Ashrafudoulla et al., 2020; Balakrish & Hormazábal, 2005)

Uno de los serotipos de *V. parahaemolyticus*, llamado O3:K6 es una cepa pandémica poseedora del gen *tdh* que codifica una hemolisina termoestable directa (Guin et al., 2019).

2.7. *Salmonella* spp.

Salmonella spp., son bacterias Gram negativas pertenecientes a la familia Enterobacteria, son anaerobias facultativas, móviles por flagelos peritricos, tienen

metabolismo oxidativo y fermentativo; se hallan en heces de animales y aguas contaminadas. Habitualmente crecen en agua sin cloruro de sodio, pero algunas cepas pueden sobrevivir en soluciones al 4% de cloruro de sodio. Su temperatura óptima de crecimiento es similar a la del cuerpo humano (35 a 37 °C), aunque algunas cepas pueden sobrevivir a temperaturas tan bajas como 2 °C o tan altas como 57 °C. Normalmente viven en alimentos húmedos con actividad del agua (A_w) de superior a 0,94, aunque ciertas cepas se han encontrado en alimentos secos con $A_w < 0,2$. *Salmonella* spp. utilizan como fuente de carbono al citrato y están ampliamente distribuidas a nivel mundial (Gamarra, 2020; Pedraza et al., 2014)

2.8. Plan de evaluación para análisis microbiológicos

El plan de evaluación indica los límites de tolerancia, establecidos como mínimos y máximos permisibles para diversos microorganismos patógenos tales como *Salmonella* spp., *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *S. aureus* y *E. coli*. Los primeros dos microorganismos mencionados deben estar ausentes en muestras de 25 g de músculo de peces, pero, en el caso de *E. coli* existen los límites permisibles se observan en la tabla 1 obtenida de Sanipes (2016).

Tabla 1. Límites de tolerancia en mínimos y máximos permisibles para *Escherichia coli*, en recursos hidrobiológicos frescos.

Especie	Categoría	Plan de muestreo		Límites de tolerancia	
		Numero de muestras (n)	Tolerancia(c)	mínimo	máximo
<i>Escherichia coli</i>	No patógeno indicador fecal	5	3	1 NMP/g	10 NMP/g
<i>Salmonella</i> spp.	Patógeno	5	0	Ausencia/25 g	-
<i>Vibrio cholerae</i>	Patógeno	5	0	Ausencia/25 g	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Patógeno	5	0	<3 NMP/g	-

2.9. Investigaciones relacionadas

Carbajal et al. (2003) investigó el nivel de coliformes fecales, de *Escherichia coli*, de *Salmonella* spp., de *Listeria monocytogenes* y de *Vibrio cholerae* de recursos hidrobiológicos, entre ellos el jurel (*Trachurus picturatus murphyi*) fresco, recolectados en el Mercado Mayorista Pesquero de Ventanilla (Lima, Perú). Para

ello los autores recolectaron ejemplares de ese pez entre febrero y abril. La detección e identificación molecular de los microorganismos estudiados siguieron los métodos de la FDA y la FAO. Como resultado se encontró que, entre cinco muestras de jurel, una de ellas tuvo presencia de *Salmonella* spp.; en las mismas muestras estuvieron ausentes *Listeria monocytogenes* y *Vibrio cholerae*, mientras que en el caso de coliformes fecales se tuvo entre 43 y 1100 NMP/g y para *E. coli*, en uno de los muestreos se tuvo un nivel considerado inócuo (<3 NMP/g), pero en otros se tuvo niveles no inócuos con valores entre 3 y 15 NMP/g.

Navarro (2017), evaluó la calidad microbiológica del jurel (*Trachurus picturatus murphyi*) en los mercados de San Juan de Lurigancho y San Martín de Porres. Tomó 60 muestras del músculo de ese pescado, y se evaluó la presencia de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. usando el procedimiento descrito en el Manual de Análisis Bacteriológico de la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA). De 30 muestras de los mercados de San Juan de Lurigancho, siete superaron el límite máximo permitido (LMP) para *E. coli*. En tanto que, en las 30 muestras de los mercados de San Martín de Porras, solo tres superaron el LMP. Para *Salmonella* spp., no se evidenció la presencia de ésta bacteria en ninguna muestra de los mercados de San Juan de Lurigancho, pero si en cuatro muestras de los mercados de San Martín de Porres.

Porres (2019) determinó la presencia de *Salmonella* spp., en tilapia fresca proveniente del Mercado La Terminal, ubicado en la zona 4 de la ciudad de Guatemala. Obtuvo 20 muestras de tilapia fresca de 20 expendios, de éstas se realizó un hisopado de piel y branquias el cual se sembró en caldo tetracionato, luego en agar xilosa lisina tergitol-4 (XLT4) y por último en agar Rambach. En éste se observó colonias con características típicas de *Salmonella*, las cuales fueron confirmadas por pruebas bioquímicas. Los datos mostraron que cinco tilapias, equivalentes al 25%, fueron positivas para *Salmonella* spp., con lo que se evidenció contaminación fecal de los productos frescos.

Martinez & Romero (2015), evaluaron la calidad microbiológica de pescado fresco en diferentes establecimientos de venta de pescado en el muelle del Puerto de La Libertad (El Salvador). Tomaron muestras de músculo y vísceras de diferentes especies comercializadas en dicho puerto; se determinó la presencia de coliformes

a través de cultivo selectivo en medio líquido y determinación del número más probable (NMP). En el caso de *Salmonella* spp., se cultivó en diferentes medios incluyendo el medio salmonella shiguella, seguido de confirmación con pruebas bioquímicas. En el caso de *Vibrio cholerae*, éste se aisló en medio TCBS y se confirmó posteriormente con pruebas bioquímicas. Los resultados mostraron que el conteo de *E. coli* de todas las muestras fueron superiores a lo establecido (<3 NMP/g) según el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08, para *Salmonella* spp., el 70% si cumplieron con lo establecido en Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08; en tanto que, en el 100% de las muestras no hubo *Vibrio cholerae*.

Dueñas (2008), determinó la presencia de *Vibrio parahaemolyticus kanagawa*; en 50 muestras de pescados, moluscos y crustáceos crudos en terminales pesqueros, muelles y supermercados de Lima metropolitana y Callao entre los años 1999 y 2000. La enumeración de tal microorganismo la hizo mediante el número más probable (NMP) e identificó la especie bacteriana mediante sus características fenotípicas presuntivas al crecer en agar TCBS y agar teepol azul de bromotimol (BTB). Los resultados mostraron que cuatro muestras en moluscos estuvieron en el rango de 3 NMP/g a 7,4 NMP/g siendo potencialmente riesgosos para el consumo humano, mientras que en el caso de los pescados y crustáceos no superaron los 3 NMP/g por lo que fueron relativamente seguras para el consumo.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Métodos

3.1.1. Lugar y periodo de ejecución de la investigación

La investigación se realizó desde el mes de octubre del 2023 hasta abril del 2024 en el Laboratorio de Biología Molecular y Microcultivos de la Facultad de Ingeniería Pesquera y Ciencias del Mar (FIPCM) de la Universidad Nacional de Tumbes, localizada en la Villa de Puerto Pizarro en el distrito, provincia y región de Tumbes, la misma que se halla en las coordenadas geográficas en el sistema Universal Transversal de Mercator (UTM): E-567371 y N-9612569 en la cuadrícula 17M.

3.1.2. Población y muestra de estudio.

Población:

La población de *Prionotus stephanophrys* estuvo conformada por todos aquellos ejemplares que se encontraron en los puntos de desembarque de Caleta Grau, Caleta La Cruz y Puerto Pizarro; y mercados de Zarumilla, Municipal Contralmirante Villar Zorritos y Mercado Modelo de Tumbes de la región Tumbes en los años 2023 y 2024.

Muestra:

La muestra estuvo constituida por 90 ejemplares de *Prionotus stephanophrys* de tamaño comercial; 45 adquiridos en los puntos de desembarque y 45 en los mercados de la región Tumbes en los años 2023 y 2024.

3.1.3. Obtención de falso volador *Prionotus stephanophrys*.

Se realizaron 18 muestreos en los seis lugares de comercialización (zonas de desembarque de Caleta La Cruz, Caleta Grau y desembarcadero de Puerto Pizarro; y mercados de Tumbes,

Contralmirante Villar Zorritos y Zarumilla), correspondiendo tres muestreos para cada lugar. En cada muestreo se recogieron cinco ejemplares de cada punto de comercialización. Los muestreos se dieron cada quince días, abarcado desde el mes de octubre de 2023 hasta abril de 2024.

Los ejemplares adquiridos se trasladaron en una caja de tecnopor a una temperatura de 4 °C hasta el Laboratorio de Microcultivos y Biología Molecular de la Facultad de Ingeniería Pesquera y Ciencias del Mar (FIPCM).

3.1.4. Registro de peso y longitud total.

Se registró el peso en gramos de cada ejemplar de falso volador utilizando una balanza gramera electrónica marca Ohaus modelo PX224 con una precisión de 0,1 g, además se midió su longitud total con un ictiómetro.

3.1.5. Limpieza de *P. stephanophrys*.

Se realizó según el manual de Sanipes (2009) sumergiendo los ejemplares en una solución clorada al 0,2 ppm de cloro libre por aproximadamente 2 min.

3.1.6. Extracción de tejidos de *Prionotus stephanophrys* y pesado de la muestra.

De cada ejemplar se retiraron las escamas de la zona de extracción seleccionada, utilizando un bisturí estéril, luego se extrajo alrededor de 20 g de músculo y piel. A continuación, se mezclaron los tejidos extraídos de varios ejemplares para obtener al menos 50 g, que fue la cantidad mínima necesario para obtener una muestra representativa de acuerdo al manual de Sanipes (2009).

El procedimiento se repitió obteniendo cinco muestras de 50 g para los análisis posteriores.

3.1.7. Preparación de solución Butterfield.

La preparación de la solución *stock* Butterfield, se hizo pesando 34 g de K_2HPO_4 , que fue transferido a una fiola de 1 l y se añadió 500 ml de agua destilada, disolviéndose el soluto completamente; en caso fue necesario se ajustó el pH a 7,2 utilizando solución de hidróxido de sodio 1 N. A continuación, la solución se esterilizó en una autoclave marca Biobase modelo BKKQ-B50II a 121 °C por 15 minutos. Después de enfriarse a temperatura ambiente se guardó en refrigeración. La solución Butterfield de trabajo se preparó diluyendo 1,25 ml de la solución *stock* hasta el volumen de 1 l utilizando agua destilada.

3.1.8. Preparación de agua peptonada tamponada.

Se preparó una solución de agua peptonada tamponada en un matraz de 500 ml. Se disolvió 10 g de peptona, con 5 g de cloruro de sodio, 9 g de $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ y 1,50 g KH_2PO_4 en 1 l de agua destilada. En caso fue necesario se calentó la mezcla para facilitar la disolución de los productos químicos. Finalmente se ajustó a pH $7,0 \pm 0,2$ y se esterilizó en una autoclave marca Biobase modelo BKKQ-B50II a 121 °C por 15 minutos.

3.1.9. Procedimiento para la detección de *E. coli*.

1. Homogenización y obtención de diluciones.

Se tomó 50 gramos de los tejidos obtenidos del falso volador, se mezcló con 450 ml de solución de trabajo Butterfield, teniendo cuidado de que la solución cubriera por completo las cuchillas de la licuadora. Los tejidos fueron licuados al menos por 2 minutos y el líquido obtenido se consideró una dilución 10^{-1} . También, se obtuvo diluciones sucesivas 10^{-2} y 10^{-3} en matraces, tomando 10 ml de la dilución previa y diluyendo con 90 ml agua peptonada.

2. Prueba presuntiva de coliformes totales.

Para la prueba presuntiva se sembró 1 ml de cada dilución obtenida con agua peptonada en tubos de 15 ml conteniendo caldo lauril sulfato (CLS). En cada tubo se colocó una campana de Durham, y se incubaron a 35 °C por 48 horas en una incubadora marca Mermert modelo IN75. Luego se evaluó la posible presencia de coliformes totales, lo cual se evidenció porque el medio se tornó turbio y la producción de gas en las campanas Durham.

3. Prueba confirmativa de coliformes totales.

Para la prueba confirmativa de coliformes totales en las muestras, se tomó una azada de cada tubo en que se evidenció crecimiento bacteriano en el medio CLS: esta asada se sembró en tubos con caldo verde brillante bilis (VBB) conteniendo campanas de Durham. Los tubos con caldo VBB fueron incubados por 48 horas a 35 °C. La presencia de turbidez en el medio y la producción de gas evidenció el crecimiento bacteriano, lo que constituyó la prueba confirmativa de la presencia de coliformes totales.

4. Prueba confirmativa de coliformes fecales.

Con un asa de Kolle se realizó una siembra a partir de los tubos con medio CLS que tuvieron crecimiento bacteriano, en nuevos tubos con caldo escherichia coli (EC), provistos con campana de Durham. En este caso la incubación se realizó a 45,5 °C por 24 horas. Cada tubo que presentó crecimiento bacteriano (evidenciado por la turbidez del medio y la producción de gas) se consideró como positivo. Se calculó el número más probable (NMP) de coliformes fecales, determinando el número de tubos que fueron positivos y buscando dicha combinación en una tabla de NMP de cinco tubos múltiples.

Prueba confirmativa de *E. coli*.

Para la prueba confirmativa de *E. coli* se tomó una asada de cada tubo que mostró crecimiento bacteriano en medio EC y se

transfirieron a placas petri de 10 cm de diámetro con medio agar eosina azul de metileno (L-EMB). Se incubó por 24 horas a 35 °C. Luego se verificó la presencia de colonias compatibles con *E. coli*, caracterizadas por presentar, centro aplanado, color oscuro, con o sin brillo metálico. En caso que se pudieron aislar al menos cinco colonias presuntivas de *E. coli* en la placa con L-EMB, se consideró positivo el tubo del cual se tomó la asada para la siembra en L-EMB.

Las colonias presuntivas de *E. coli* fueron sembradas en agar plate count, luego de las colonias se obtuvo el ADN para la identificación molecular. En tanto que, el NMP de *E. coli* se obtuvo en base a los tubos EC que se declararon positivos comparándolos con la tabla de NMP para 5 tubos múltiples.

5. Siembra en medio de cultivo MacConkey.

De los tubos con crecimiento bacteriano en el medio VBB se tomó una asada y se sembró en placas con medio MacConkey, incubándose por 24 a 48 horas a 35 °C. Las colonias crecidas fueron caracterizadas por su forma, color, tamaño. Las más representativas, fueron cultivadas en agar TSA hasta obtener cultivos puros, luego se les realizó tinción de Gram para distinguir las cepas Gram negativas, las que fueron presuntivas de ser coliformes. Las colonias caracterizadas pasaron a la fase de extracción de ADN para su identificación molecular.

3.1.10. Procedimiento para la detección de *Salmonella* spp.

1. Homogenización de tejidos y enriquecimiento bacteriano.

Se tomó 25 g de los tejidos del falso volador, se homogenizaron y mezclaron con 225 ml de agua peptona tamponada a 37 ± 1 °C por 18 ± 2 h. A continuación, se enriqueció de manera selectiva, transfiriendo 0,1 ml de la solución preparada con agua peptonada, a

un tubo conteniendo caldo Rapapport Vassiliadis (RVS), el cual se incubó a $41,5 \pm 1$ °C durante 24 ± 3 horas.

2. Sembrado en placa e identificación.

Los tubos con el caldo RVS fueron sembrados utilizando un asa de Kolle en placas petri de 14 cm de diámetro con agar salmonella-shiguella (SS); cuando no se contó con las placas de 14 cm se sembró en dos placas de 10 cm; éstas se incubaron a una temperatura de 33 a 37 °C durante 18 a 24 horas.

3.1.11. Procedimiento para la detección de *Vibrio parahaemolyticus*.

El procedimiento se basó en la metodología empleada por Dueñas (2008), con previas modificaciones que consistieron en:

1. Homogenización de tejidos y diluciones.

Se tomó 25 gramos de musculatura y piel de falso volador, se homogenizó y se mezcló con 225 ml de PBS suplementado con cloruro de sodio hasta un 3%, se homogenizó por 2 minutos. El líquido obtenido se consideró la dilución 10^{-1} . Para obtener las diluciones 10^{-2} y 10^{-3} se tomó matraces con 90 ml agua peptonada salina y se tomó sucesivamente 10 ml de cada dilución anterior mezclándose con los 90 ml de agua peptonada en el respectivo matraz. Luego se incubó por 18 horas a 37 °C, se verificó la presencia de turbidez en el medio de cada dilución y se consideró positivo.

2. Presuntivo de *Vibrio parahaemolyticus*

Como siguiente paso se calculó el número más probable (NMP) de *Vibrio parahaemolyticus*, determinando el número de tubos que fueron positivos y buscando dicha combinación en una tabla de NMP de cinco tubos múltiples. Se sembró en agar TCBS cada dilución que presento crecimiento bacteriano por la presencia de turbidez con la

técnica de dispersión y agotamiento, y se incubó por 18 horas a 37 °C. A continuación, se identificó las cepas presuntivas de *Vibrio parahaemolyticus*, las cuales fueron aquellas que al crecer en TCBS formaron colonias de color azul verdoso, indicador de que la cepa fue no fermentadora de sacarosa.

3. Confirmación de *Vibrio parahaemolyticus*

Las cepas presuntivas de *Vibrio parahaemolyticus* se sembraron en agar TSA, para su purificación, luego se les extrajo ADN para su identificación molecular.

3.1.12. Procedimiento para la detección de *Vibrio cholerae*.

El procedimiento se siguió la metodología empleada por Rosec et al. (2012), basada en el protocolo ISO/TS 21872-1 para aislamiento de *Vibrio cholerae* en alimentos marinos que consistió en:

1. Homogenización de tejidos y enriquecimiento bacteriano

Se tomó 25 gramos de musculatura y piel de falso volador, se homogenizaron y se mezclaron con 225 ml de agua peptonada salina suplementado con cloruro de sodio con una concentración de 2,5%, éstos se dejaron en incubación a $41,5 \pm 1$ °C por 6 ± 1 hora.

2. Siembra de *Vibrio cholerae*

Como siguiente paso se sembró una asada de 10 µl en agar cromogénico por dispersión y agotamiento, y se incubó por 24 ± 3 horas a 37 ± 1 °C. A continuación, se identificó las cepas presuntivas de *Vibrio cholerae*, las que al crecer en HiCrome™ vibrio agar produjeron colonias color púrpura.

3. Confirmación de *Vibrio cholerae*

Se tomaron al menos 5 colonias con características típicas de *Vibrio cholerae* que fueron sembradas en agar nutriente salino, luego se les extrajo ADN para su identificación molecular.

3.1.13. Tinción de gram

Se realizó la tinción de Gram de las cepas previamente purificadas en agar TSA a fin de determinar si fueron Gram positivas o Gram negativas.

3.1.14. Procedimiento para la identificación molecular.

Extracción y cuantificación del ADN de las cepas bacterianas

Las 100 cepas bacterianas fueron caracterizadas morfológicamente, de ellas se seleccionaron, al azar, seis cepas de diferentes colonias aisladas de coliformes fecales, *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio cholerae*, que crecieron en sus respectivos medios de cultivo sólido (MacConkey, eosina azul de metileno, HiCrome y TCBS). De estas mismas cepas se extrajo ADN para su identificación molecular, de la siguiente manera:

Las cepas fueron reactivadas colocando cada una de ellas en un microtubo conteniendo 900 µl de TSB y 100 µl de la cepa conservada, luego se incubaron a 37 °C por 24 horas. A continuación, se realizó la extracción del ADN utilizando el protocolo de choque térmico con PBS 1X, para lo cual se centrifugó los tubos en una centrifuga marca Orto Alresa modelo CE113 a 10 000 rpm por 2 minutos; se eliminó el sobrenadante y se resuspendió el sedimento en 500 µl de PBS 1X. Se agitó por 2 minutos en un vórtex, se eliminó el sobrenadante y se resuspendió el sedimento en 200 µl de tris-EDTA (TE) 1X. Se llevó a ebullición por 10 minutos, posteriormente se colocó sobre hielo por 5 minutos, se centrifugó a 10 000 rpm por 2 minutos y se transfirió 100 µl a un nuevo microtubo. Luego se agregó 1 µl de ARNasa (0,1

mg/ml), se incubó por 1 hora a 37 °C, a continuación, se realizó una dilución con agua ultra pura de grado HPLC y se almacenó a -20 °C.

La cuantificación del ADN extraído (anexo 1) se realizó con un espectrofotómetro marca ThermoScientific modelo NanoDrop One. Se registraron los datos de la concentración de ADN (ng/μl) y la relación ADN/Proteína (A260/280).

Amplificación de un fragmento del gen 16S ARNr de las cepas bacterianas

Se utilizó el método descrito por Vergara (2023), con modificaciones, para la amplificación de un fragmento del gen 16S ARNr bacteriano mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La reacción fue realizada utilizando un microtubo con capacidad de 200 μl, al cual se añadió los reactivos de acuerdo a la tabla 2.

Tabla 2. Volumen de reactivos para preparar el mix necesario para la reacción de la PCR.

Reactivos	Cantidad (μl)
Agua grado HPLC	17,8
Buffer de PCR 10X (incluye KCl 50 mM)	2,5
MgCl ₂ (25 mM)	1,0
Mix de dNTPs (10 mM)	0,5
Cebador directo 27F	0,5
Cebador inverso 1492R	0,5
Taq polimerasa	0,2
ADN	2,0
<i>Total</i>	25,0

La amplificación de ADN se realizó en un termociclador marca Applied Biosystem modelo SimpliAmp programado como se muestra en la figura 1.

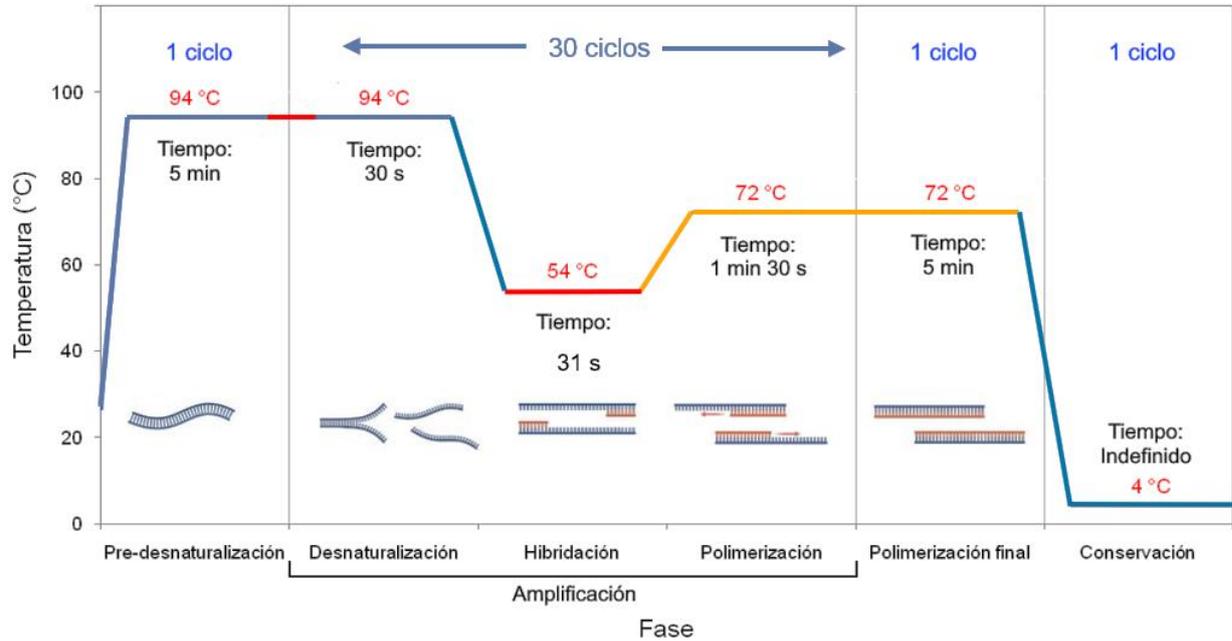


Figura 1. Esquema de la programación del termociclador para la amplificación.

Migración

La muestra amplificada fue migrada en un gel de agarosa al 2%, se colocó los amplicones en los pozos con *buffer* de carga y se migró a 85 voltios por 30 a 35 minutos. Luego se observó en un transiluminador si se formaron bandas fluorescentes de un tamaño aproximado de 1500 pb, que indicaron la presencia del fragmento del gen 16S ARNr.

Secuenciamiento e identificación de especies bacterianas.

Los amplicones fueron enviados a una empresa externa para su secuenciamiento. Se colocó 25 µl de cada amplicón en tubos de microcentrífuga de 200 µl bien sellados. Los amplicones se colocaron en una caja de tecnopor con *gelpack* y fueron enviados de la manera más rápida a la empresa BTS S.A.C en el departamento de Lima para que esta a su vez tramitara su secuenciamiento en China.

Las secuencias nucleótidas enviadas de regreso por la empresa fueron analizadas utilizando softwares tales como Chromas, FastQC

y Mega 11. Luego las secuencias depuradas fueron buscadas en las bases de datos de Genbank del National Institute of Health of United States (NIH), usando el software Basic Local Alignment Search Tool (BLAST), disponible en la dirección: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> y además en la base de datos de SILVA disponible en: <https://www.arb-silva.de/>, para la identificación de la especie y/o género, teniendo como criterio que si el porcentaje de similitud es mayor a 99%, es posible declarar la especie y si el porcentaje es mayor a 97% y menor a 99% es posible declarar solo el género.

3.1.15. Procesamiento y análisis de datos

Los datos obtenidos sobre la morfometría de los ejemplares del falso volador fueron ingresados en una hoja de cálculo en Microsoft Excel, se calcularon su media y desviación estándar.

Se determinó el nivel de *E. coli*, *Salmonella* spp., *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio cholerae* en falso volador (*Prionotus stephanophrys*) y se comparó con los límites máximos permisibles establecidos en el manual de límites de tolerancia en mínimos y máximos permisibles para *Escherichia coli*, en recursos hidrobiológicos frescos (Sanipes, 2016)

Se comparó los niveles de *E. coli*, *Salmonella* spp., *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio cholerae* en falso volador (*Prionotus stephanophrys*) registrados en los puntos de desembarque y los puntos de acopio a fin de determinar dónde hubo mayor nivel de tales microorganismos.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Peso y longitud total de *Prionotus stephanophrys*

En la tabla 3 y 4 se observan los pesos promedio y longitudes totales promedio de *P. stephanophrys*. Los ejemplares más grandes que se recolectaron en los puntos de desembarque, correspondieron al tercer muestreo realizado en el Desembarcadero de Puerto Pizarro, los que tuvieron peso promedio de $303,78 \pm 107,83$ g y longitud total promedio de $29,80 \pm 4,22$ cm. Por otro lado, en la tabla 4 se aprecia que los ejemplares más grandes obtenidos en mercados, fueron los correspondientes al tercer muestreo realizado en el Mercado Modelo de Tumbes, los que tuvieron peso promedio de $388,34 \pm 60,65$ g y longitud total promedio de $32,32 \pm 1,11$ cm.

Tabla 3. Peso y longitud total (media \pm desviación estándar) de *Prionotus stephanophrys* adquiridos en los puntos de desembarque de Tumbes.

Punto de Muestreo	Localización	N° de muestreo	Peso (g) (Media \pm DE)	Longitud total (cm) (Media \pm DE)
1	Zona	1	138,08 \pm 29,60	22,16 \pm 2,06
	desembarque	2	243,68 \pm 54,38	26,20 \pm 2,46
	Caleta La Cruz	3	146,94 \pm 29,57	22,50 \pm 1,27
2	Zona	1	159,16 \pm 76,88	23,60 \pm 3,76
	desembarque	2	132,70 \pm 29,32	22,40 \pm 1,82
	Caleta Grau	3	115,52 \pm 21,77	22,20 \pm 1,30
3	Desembarcadero	1	151,50 \pm 22,73	23,30 \pm 1,30
	Pesquero	2	266,82 \pm 64,42	29,50 \pm 3,57
	Artesanal Villa Puerto Pizarro	3	303,78 \pm 107,83	29,80 \pm 4,22

Tabla 4. Peso y longitud total (media \pm desviación estándar) de *Prionotus stephanophrys* adquiridas en los mercados de Tumbes.

Punto de Muestreo	Localización	N° de muestreo	Peso (g) (Media \pm DE)	Longitud total (cm) (Media \pm DE)
4	Mercado	1	167,42 \pm 30,43	24,90 \pm 1,47
	Modelo de	2	214,10 \pm 35,18	27,02 \pm 1,31
	Tumbes	3	388,34 \pm 60,55	32,32 \pm 1,11
5	Mercado	1	115,80 \pm 29,37	22,40 \pm 2,10
	Municipal	2	127,00 \pm 60,65	21,40 \pm 2,19
	Contralmirante Villar Zorritos	3	146,79 \pm 52,83	22,60 \pm 3,36
6	Mercado de Zarumilla	1	244,72 \pm 27,44	26,70 \pm 2,22
		2	204,52 \pm 67,99	26,20 \pm 3,72
		3	157,76 \pm 11,43	24,18 \pm 0,45

Las longitudes totales de los ejemplares fueron estadísticamente superiores ($p > 0,05$) a la longitud total mínima de captura establecida para *P. stephanophrys* que es de 20 cm con un 20% de tolerancia, según la Resolución Ministerial N° 209-2001/PE (Ministerio de Pesquería, 2001). Esto indicó que la mayor parte de los ejemplares de falso volador obtenidos en los puntos de muestreo, tuvieron talla comercial. Si bien no existe normatividad que establezca un peso mínimo de captura, sin embargo, España-Mindiola et al. (2024) reportó que entre los años 2017 y 2018, el peso del falso volador en el Ecuador estuvo en el rango de 140 a 555 g; en tanto que Green (2011) reportó pesos que no sobrepasaron los 250 g, con lo que los pesos del falso volador observados en esta investigación se hallaron dentro del rango indicado por España-Mindiola et al. (2024) y al igual que lo reportado por Green (2011) estuvieron por debajo de los 250 g, indicando que los peces observados fueron adecuados para su comercialización.

4.2. Nivel de coliformes totales

Los niveles de coliformes totales determinados según la técnica del número más probable, fueron muy variables, estando entre 0,8 NMP/g a 35 NMP/g (tabla 5 y 6). En el caso de los pescados adquiridos en los puntos de desembarque se mostró que los niveles estuvieron entre 3,4 NMP/g y 35 NMP/g, mientras que, en el caso

de los ejemplares de falso volador adquiridos en mercados mostraron una variación menor entre 0,8 NMP/g y 17 NMP/g.

Tabla 5. Conteo de coliformes totales en falso volador adquirido en puntos de desembarque.

Punto de muestreo	Localización	N° de Muestreo	Promedio de tubos positivos por dilución			Coliformes totales (NMP/g)
			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
1	Zona	1	5	4	3	28,0
	desembarque	2	5	5	1	35,0
	Caleta La Cruz	3	5	3	0	7,9
2	Zona	1	5	3	2	14,0
	desembarque	2	4	4	0	3,4
	Caleta Grau	3	5	1	1	4,6
3	Desembarcadero	1	5	2	1	7,0
	Pesquero	2	5	3	1	11,0
	Artesanal Villa	3	5	4	1	17,0
	Puerto Pizarro					

Tabla 6. Conteo de coliformes totales en falso volador adquirido en mercados.

Punto de muestreo	Localización	N° de Muestreo	Promedio de tubos positivos por dilución			Coliformes totales (NMP/g)
			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
4	Mercado	1	4	4	0	3,4
	Modelo de	2	5	3	3	17,0
	Tumbes	3	5	3	2	14,0
5	Mercado	1	3	0	0	0,78
	Municipal	2	4	2	1	2,6
	Contralmirante Villar Zorritos	3	5	2	2	9,4
6	Mercado de	1	5	4	0	13,0
	Zarumilla	2	5	2	1	7,0
		3	5	2	0	4,9

Hasta el momento no se ha localizado ninguna norma nacional o internacional que especifique los límites máximos permisibles (LMP) para coliformes totales en pescado. En esta investigación los coliformes totales variaron entre 0,78 NMP/g y 35 NMP/g; sin embargo, estos valores fueron menores al nivel reportado por Martínez & Romero (2015), en robalo desembarcado en el Puerto La Libertad en El Salvador, que tuvo 93 NMP/g, valor que según dichos autores indicó que la muestra de pescado no fue apta para el consumo humano directo. Dado que en esta investigación se observaron valores menores, no es posible concluir que estos no hayan sido adecuados para consumo humano.

4.3. Nivel de coliformes fecales

En la tabla 7 y 8 se muestra los niveles de coliformes fecales según punto de desembarque o de acopio. Se observa que en la zona de desembarque de Caleta La Cruz se encontraron concentraciones menores (0,78 NMP/g, 0,93 NMP/g y 13 NMP/g) a comparación de los observados en Puerto Pizarro, que fueron más altos (1,7 NMP/g, 11 NMP/g y 17 NMP/g). Por otra parte, entre los mercados, el Mercado Modelo de Tumbes se fue el que registró mayores concentraciones de coliformes fecales 1,4 NMP/g, 14 NMP/g y 17 NMP/g que superaron a los observados en los otros mercados de la región.

Tabla 7. Conteo de tubos positivos de coliformes fecales en *Prionotus stephanophrys* por puntos de desembarque.

Punto de muestreo	Localización	N° de Muestreo	Promedio de tubos positivos por dilución			Coliformes fecales (NMP/g)
			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
1	Zona	1	5	4	0	13,0
	desembarque	2	2	2	0	0,9
	Caleta La Cruz	3	3	0	0	0,8
2	Zona	1	5	3	2	14,0
	desembarque	2	4	2	0	2,2
	Caleta Grau	3	5	2	0	4,9
3	Desembarcadero	1	4	1	1	1,7
	Pesquero	2	5	3	1	11,0
	Artesanal Villa	3	5	4	1	17,0
	Puerto Pizarro					

Tabla 8. Conteo de tubos positivos de coliformes fecales en *Prionotus stephanophrys* por mercado.

Punto de muestreo	Localización	N° de Muestreo	Promedio de tubos positivos por dilución			Coliformes fecales (NMP/g)
			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
4	Mercado	1	3	1	1	1,4
	Modelo de	2	5	3	3	17,0
	Tumbes	3	5	3	2	14,0
5	Mercado	1	3	0	0	0,8
	Municipal	2	4	0	0	1,3
	Contralmirante	3	5	2	2	9,4
	Villar Zorritos					
6	Mercado de	1	3	3	0	1,7
	Zarumilla	2	4	2	1	2,6
		3	5	2	0	4,9

La normativa peruana no incluye un límite máximo permisible para coliformes fecales, sino que solo cuenta con uno relativo a *E. coli* de igual manera como ocurre con la normatividad internacional establecida por la FDA (Food and Drugs Agency-United States of American) estas instituciones han establecido la numeración en los límites máximos permisibles (LMP) para pescados. Sin embargo, es posible que niveles altos de coliformes fecales estén relacionados con niveles altos de *E. coli* como se ha observado en la investigación de Ariyawansa et al. (2016), quienes al analizar peces comercializados en la India, encontraron que la mayoría tuvieron niveles de coliformes fecales entre 15 NMP/g y 1100 NMP/g, con una buena parte de ellos con niveles de *E. coli* > 500 NMP/g, por lo que fueron declarados no aptos para el consumo, lo que de alguna manera muestra que al haberse observado en esta investigación un nivel de coliformes fecales bajo, el pescado sería probablemente apto para el consumo.

4.4. Nivel de *Escherichia coli*

Los niveles de *Escherichia coli* en cada zona de muestreo (Zonas de desembarque y mercados) se observan en las tablas 9 y 10. Se aprecia que en el caso de los pescados obtenidos de zonas de desembarque, siete de las nueve

muestras estuvieron por debajo de 1 NMP/g, que es un valor que permite declarar que los productos son aceptables para el consumo, en tanto que solo dos de las muestras tuvieron valores entre 1 y 10 NMP/g, sin superar este último valor que es el límite inferior para determinar que el producto es inaceptable según lo ha establecido Sanipes (2016).

Tabla 9. Carga de *Escherichia coli* (NMP) en *Prionotus stephanophrys* obtenidos en zonas de desembarque de Tumbes.

Punto de muestreo	Localización	N° de Muestreo	Promedio de tubos positivos por dilución			<i>E. coli</i> (NMP/g)
			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
1	Zona	1	0	0	0	0,00
	desembarque	2	4	2	1	2,60
	Caleta La Cruz	3	5	2	1	7,00
2	Zona	1	0	0	0	0,00
	desembarque	2	2	1	1	0,92
	Caleta Grau	3	2	1	0	0,68
3	Desembarcadero	1	3	0	0	0,78
	Pesquero	2	0	0	0	0,00
	Artesanal Villa	3	1	1	1	0,40
	Puerto Pizarro					

Tabla 10. Carga de *Escherichia coli* (NMP) en *Prionotus stephanophrys* obtenidos en mercados de Tumbes.

Punto de muestreo	Localización	N° de Muestreo	Promedio de tubos positivos por dilución			Carga de <i>E. coli</i> (NMP/g)
			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
4	Mercado	1	0	0	0	0,00
	Modelo de Tumbes	2	5	3	3	17,00
		3	5	4	1	17,00
5	Mercado	1	1	0	0	0,20
	Municipal	2	0	0	0	0,00
	Contralmirante Villar Zorritos	3	0	0	0	0,00
6	Mercado de Zarumilla	1	1	2	0	0,61
		2	2	1	1	0,92
		3	0	0	0	0,00

En el caso de los pescados obtenidos en los mercados, siete de las nueve muestras tuvieron valores menores a 1 NMP/g, siendo por tanto seguras para consumo; en tanto que, dos de las muestras obtenidas en el Mercado Modelo de Tumbes, excedieron el valor de 10 NMP/g establecido como límite máximo permisible por Sanipes (2016), siendo por tanto inadecuadas para el consumo humano..

En la investigación de Silvestre (2022) se encontró que el jurel (*Trachurus picturatus murphyi*) comercializado en los mercados Modelo y Antiguo de Huánuco tuvo un nivel de *Escherichia coli* de 46 NMP/g, que superó el máximo establecido de 10 NMP/g, concluyendo que este pescado comercializado en dichos mercados careció de calidad higiénica para su comercialización, caso similar al encontrado en esta investigación, en que en dos de las muestras se encontraron niveles superiores a 10 NMP/g.

4.5. Nivel de *Salmonella* spp.

En los pescados *Prionotus stephanophrys* obtenidos de zonas de desembarque y mercados de la región Tumbes, no se detectó *Salmonella* spp., por lo tanto, el producto cumplió con lo indicado por la normativa nacional dispuesta por Sanipes (2016), y por la normatividad internacional de la FDA así como respecto al criterio

microbiológico RTCA 67:04:50:08 del Reglamento Centro Americano [RTCA] (2009), todos los cuales establecen que los alimentos deberían tener ausencia total de esta bacteria patógena, por lo que los ejemplares de *P. stephanophrys* comercializados en Tumbes no representan ningún riesgo a los consumidores de enfermar por *Salmonella* spp.

4.6. Nivel de *Vibrio parahaemolyticus*

En la tabla 11 y 12 se aprecia el conteo de *Vibrio parahaemolyticus* en las muestras de *P. stephanophrys*. Con la excepción de una de las muestras (la muestra 2 del Mercado Contralmirante Villar – Zorritos), el resto de muestras no superaron el límite máximo establecido en la normatividad nacional (<3 NMP/g).

De lo cual se deduce que solo en el caso de la muestra 2 del Mercado Municipal Contralmirante Villar – Zorritos, existió un riesgo para el consumidor de ver afectada su salud por la presencia de *V. parahaemolyticus* en *Prionotus stephanophrys* comercializado.

Tabla 11. Carga de *Vibrio parahaemolyticus* en *Prionotus stephanophrys* obtenidos en zonas de desembarques de Tumbes.

Punto de muestreo	Localización	N° de Muestreo	Promedio de tubos positivos por dilución			Carga de <i>V. parahaemolyticus</i> (NMP/g)
			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
1	Zona desembarque Caleta La Cruz	3	3	2	0	1,40
2	Zona desembarque Caleta Grau	2	2	2	0	0,93
		3	3	0	0	0,78
3	Desembarcadero Pesquero Artesanal Villa Puerto Pizarro	3	3	1	0	1,10

Tabla 12. Carga de *Vibrio parahaemolyticus* en *Prionotus stephanophrys* obtenidos en mercados de Tumbes.

Punto de muestreo	Localización	N° de Muestreo	Promedio tubos positivos por dilución			Carga de <i>V. parahaemolyticus</i> (NMP/g)
			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
4	Mercado Modelo de Tumbes	2	4	3	0	2,70
		3	4	2	1	2,60
5	Mercado Municipal Contralmirante Villar Zorritos	1	4	2	1	1,30
		2	5	0	1	3,10
		3	3	3	2	1,70
6	Mercado de Zarumilla	1	4	0	0	2,60
		2	1	0	0	0,20
		3	3	3	2	1,70

Al comparar los resultados resumidos de los puntos de muestreo se observó que el nivel de *Vibrio parahaemolyticus* estuvo en el rango permisible en zonas de desembarque y mercados, a excepción de la segunda repetición del Mercado Municipal Contralmirante Villar Zorritos que tuvo una carga de 3,10 NMP/g sobrepasando lo establecido por Sanipes (2016). En tanto que, en la investigación de Chen & Ramos (2004), se reportó la presencia de *Vibrio parahaemolyticus* en pescados frescos, como son los atunes, en centros comerciales de Sao Paulo, encontrando niveles de 3 NMP/g y 4 NMP/g, lo que indicó que fue un producto de bajo riesgo para el consumidor, como lo fue el falso volador en esta investigación.

4.7. Nivel de *Vibrio cholerae*

En las tablas 13 y 14, se observa la presencia o ausencia del patógeno *V. cholerae* en ejemplares de *Prionotus stephanophrys* adquiridos en zonas de desembarque y mercados de Tumbes. Según la norma nacional establecida por Sanipes (2016), en el pescado fresco no debe haber presencia de *V. cholerae*; mientras que en la presente investigación se observa que, en el caso de las zonas de desembarque de Tumbes, un tercio de las muestras mostraron presencia de esta bacteria, siendo más frecuente en La Cruz, seguido de Grau; mientras que, en Puerto Pizarro no se

detectó en ninguno de los ejemplares. En el caso de los mercados de Tumbes, también un tercio de las muestras mostró presencia de *V. cholerae*, siendo que los ejemplares con presencia de *V. cholerae* estuvieron presentes por igual en cada mercado.

Tabla 13. Presencia de *Vibrio cholerae* en *Prionotus stephanophrys* obtenidos de zonas de desembarque de Tumbes.

Punto de Muestreo	Localización	Presente en la muestra
1	Zona desembarque Caleta La Cruz	Si
		No
		Si
2	Zona desembarque Caleta Grau	Si
		No
		No
3	Desembarcadero Pesquero Artesanal Villa Puerto Pizarro	No
		No
		No

Tabla 14. Presencia de *Vibrio cholerae* en *Prionotus stephanophrys* obtenidos de mercados de Tumbes.

Punto de Muestreo	Localización	Presente en la muestra
4	Mercado Modelo de Tumbes	No
		Si
		No
5	Mercado Municipal Contralmirante Villar Zorritos	No
		No
		Si
6	Mercado de Zarumilla	Si
		No
		No

Estos resultados, sin embargo, deben ser tomados con precaución, puesto que la identificación de *V. cholerae* se realizó a través de ciertas características fenotípicas; y como se ha observado en otras investigaciones similares como la realizada por Sánchez et al. (2015) en Colombia, de 334 posibles cepas de *Vibrio cholerae* aisladas en peces, sólo 123 pudieron ser confirmadas como correspondientes a dicha especie, siendo que las restantes correspondieron a otras especies entre ellas *V. alginolyticus* y *A. hydrophila*; por lo que sería conveniente realizar una investigación más profunda para tratar de determinar con máxima precisión si las cepas de *Vibrio* aisladas correspondieron precisamente a *V. cholerae*.

4.8. Caracterización morfológica y molecular de las cepas aisladas de *Prionotus stephanophrys*.

Se pudieron identificar molecularmente tres especies: *Providencia vermicola*, *Enterobacter kobei* y *Klebsiella pneumoniae* que correspondieron a cuatro de las cepas aisladas, con porcentajes de similitud entre 98,92 y 100% (tabla 15). Dos cepas, presuntamente correspondientes a *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio cholerae*, no pudieron ser identificadas porque la calidad del ADN extraído no fue la suficiente para el secuenciamiento.

Las cepas bacterianas fueron Gram negativas con forma de cocobacilos o bacilos.

Tabla 15. Morfología de las colonias e identificación molecular de cepas de coliformes fecales, *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio cholerae*.

Medio de cultivo	Cepa	Morfología de colonia			Identificación molecular		
		Forma	Tamaño (mm)	color	Especie	%Similitud	
						Genbank	Silva
MacConkey	1 CF	Circular	0,4	Fucsia	<i>Providencia vermicola</i>	100,00	99,55
Eosina de azul de metileno	M3-77	Puntiforme	0,5	Negras azuladas	<i>Enterobacter kobei</i>	99,93	98,92
	2 LC-35	Puntiforme	0,5	Negras azuladas	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	99,93	99,85
HiCrome™ vibrio	Cg 95	Circular	2,0	Purpura	ND*	----	----
	LC 96	Circular	1,5	Purpura	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	99,93	99,85
TCBS	29 VP	Circular	0,8	Verde azulado	ND*	----	----

*ND: no se logró la identificación molecular de la cepa, pues la calidad del ADN extraído no fue suficiente para lograr un adecuado secuenciamiento.

Se identificó en el medio MacConkey una cepa correspondiente a *Providencia vermicola*, esto es coherente puesto que el género *Providencia* corresponde al orden enterobacteriales y el medio MacConkey favorece el crecimiento de bacterias de este orden Valtek diagnostics (2010), adicionalmente esta especie ha sido reportada previamente en tilapias de cultivo por Rajme-Manzur et al. (2023), siendo una especie patógena para esa especie que ha sido responsable de mortalidades entre 60 al 100% como lo indican los mismos autores.

Se identificaron dos cepas bacterianas en medio eosina de azul de metileno, las cuales fueron: *Enterobacter kobei* y *Klebsiella pneumoniae*, estas cepas comúnmente pueden crecer en este medio pues son enterobacteriales que son favorecidas para crecer en este medio (Britania, 2021).

E. kobei es una bacteria que se ha encontrado implicada en infecciones del tracto urinario en pacientes hospitalizados, es una bacteria de gran preocupación puesto que varias de sus cepas son multirresistentes; también ha sido reportada por El Zowalaty et al. (2023), en peces, en los cuales se han dado problemas por histaminas, por lo que aparentemente puede llegar a los productos a través de una mala manipulación o contaminación. Esto sería la razón de que esta especie haya sido identificada en un ejemplar adquirido en el mercado modelo de Tumbes probablemente porque se haya contaminado por una mala manipulación.

Klebsiella pneumoniae ha sido reportada como una bacteria patógena importante en los seres humanos; adicionalmente es responsable de llevar genes de resistencia a antibióticos desde el ambiente hasta la clínica humana. Si bien es cierto, no se ha reportado frecuentemente que sea patógena para los peces, ya existe un informe acerca de una mortalidad en masa de tilapias del Nilo, originada por esta bacteria (Vaneci-Silva et al., 2022).

Estas bacterias se aislaron de muestras que vinieron de zonas de desembarque, lo cual es lógico teniendo en cuenta que estas bacterias se trasladan del medio ambiente a sus huéspedes humanos como han señalado (Vaneci-Silva et al., 2022).

V. CONCLUSIONES

1. Los niveles de coliformes totales en *P. stephanophrys* fueron muy variables estando entre 0,8 NMP/g a 35 NMP/g, si bien no existe un límite máximo permisible para este grupo de bacterias, sus valores relativamente bajos posiblemente no representan un riesgo para la salud del consumidor.
2. Los niveles de coliformes fecales en *P. stephanophrys* se hallaron entre 0,78 NMP/g y 17 NMP/g, si bien tampoco existe un límite máximo permisible para este grupo de bacterias, sus niveles bajos posiblemente implican que no suponen riesgo para la salud del consumidor.
3. Los niveles de *Escherichia coli* en *P. stephanophrys* en las zonas de desembarque y mercados del departamento, con la excepción del Mercado Modelo de Tumbes oscilaron entre 0 y <10 NMP/g, lo cual no excede el límite máximo permisible y por lo tanto no representarían un peligro para el consumidor. Sin embargo, en el mercado modelo de Tumbes se encontraron en su mayoría niveles de 17 NMP/g que sobrepasaron los límites admitidos, por lo que en dicho caso los pescados representaron un riesgo para la salud. La alta carga de *E. coli* probablemente se debe a problemas durante el manipuleo de los mismos y por las condiciones de pobre higiene del mercado. En particular, se ha identificado que los problemas de infraestructura en la zona, como el colapso de los sistemas de desagües, agravan la situación. La falta de un sistema adecuado de alcantarillado provoca la acumulación de aguas residuales cerca de las áreas de procesamiento y venta de pescado, lo que favorece la contaminación de los productos pesqueros por contacto con aguas contaminadas.
4. No se detectó *Salmonella* spp. en ninguno de los ejemplares muestreados, por lo que el producto cumplió con lo establecido por la normativa nacional, no representando riesgo para el consumidor respecto a enfermarse por *Salmonella* spp.

5. Los niveles de *Vibrio parahaemolyticus* estuvieron entre 0,20 NMP/g y 3,10 NMP/g. Casi todos los puntos de desembarque y mercados presentaron valores por debajo del límite establecido por la normatividad que es de 3 NMP/g, con la excepción de Mercado Municipal Contralmirante Villar Zorritos, el cual en un muestreo excedió tal límite.
6. Se detectó de manera presuntiva la presencia de *Vibrio cholerae* en un tercio de las muestras, siendo más frecuente en la zona de desembarque de La Cruz, seguido de Caleta Grau. En todos los mercados se detectó también cepas de esta especie, aunque de manera presuntiva.
7. Se identificaron molecularmente las siguientes cepas bacterianas que correspondieron a: *Providencia vermicola*, *Enterobacter kobei* y *Klebsiella pneumoniae*, todas ellas han sido reportadas como patógenas para el ser humano.

VI. RECOMENDACIONES

1. Monitorear los niveles de *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio cholerae* en el agua, materiales e instrumentos que se emplean en su comercialización de falso volador en los mercados de la región.
2. Evaluar el nivel de patogenicidad de las cepas enteropatógenas identificadas a través de la amplificación de los posibles genes de virulencia que porten, tales como *stx* para *E. coli*, *tdh* en *Vibrio parahaemolyticus*, *toxR* en *Vibrio cholerae* e *invA* para *Salmonella* spp.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Ariyawansa, S., Ginigaddarage, P., Jinadasa, K., Chandrika, J. M., Arachchi, G. G., & Ariyaratne, S. (2016). Assessment of Microbiological and Bio-chemical Quality of Fish in a Supply Chain in Negombo, Sri Lanka. *Revista Procedia Food Science*, 6, 246-252. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2016.02.032>
- Ashrafudoulla, M., Mizan, M. F. R., Ha, A. J.-W., Park, S. H., & Ha, S.-D. (2020). Antibacterial and antibiofilm mechanism of eugenol against antibiotic resistance *Vibrio parahaemolyticus*. *Revista Food Microbiology*, 91, 103500. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103500>
- Balakrish, G., & Hormazábal, J. C. (2005). The *Vibrio parahaemolyticus* pandemic. *Revista chilena de infectología*, 22(2), 125-130. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182005000200002>
- Barba, G., Ramírez De León, J. A., Cortés, J. A., Sánchez, I. L., & Ruelas, J. R. (2020). Contenido de histamina y calidad microbiológica de pescado comercializado en Mazatlán, Sinaloa. *Biocencia; Vol. 14, Núm. 1 (2012); 3-12*. <https://doi.org/10.18633/bt.v14i1.109>
- Britania. (2021). *E.M.B. Agar Eosina y Azul de Metileno*. Britania. https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6054e713a290e.pdf
- Carbajal, M. T., Rabelo, P., Sebastián, C., & Ayala, M. E. (2003a). Evaluación microbiológica de productos adquiridos en el mercado mayorista pesquero de ventanilla—Perú. *Revista Cubana de Salud Pública*, 29(2), 121-123.

- Carbajal, M. T., Rabelo, P., Sebastián, C., & Ayala, M. E. (2003b). Evaluación microbiológica de productos adquiridos en el mercado mayorista pesquero de ventanilla—Perú. *Revista Cubana de Salud Pública*, 29(2), 121-123. <http://scielo.sld.cu/pdf/rcsp/v29n2/spu05203.pdf>
- Carquin, K. (2016). *Planeamiento estratégico para la región Tumbes* [Tesis de Magister en Administración Estratégica de Empresas, Pontificia Universidad Católica del Perú]. https://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/20.500.12404/14719/CARQUIN_FERNANDINI_PLANEAMIENTO_TUMBES.pdf
- Chen, J., & Ramos, E. T. (2004). *Pesquisa de Vibrio parahaemolyticus em atum (Thunnus spp) comercializado na zona sul do município de São Paulo—SP* [Dissertação de Mestre em Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo]. <https://repositorio.usp.br/item/001417628>
- Comisión de Promoción del Perú para la Exportación y el Turismo [Promperú]. (2020). *Pesca para el consumo humano directo*. https://investperu.peru.info/archivos/sector/highlights_pesca_enero2022.pdf
- Comisión Europea. (2019). *Reglamento de ejecución (UE) 2019/627 de la comisión*. <https://www.boe.es/doue/2019/131/L00051-00100.pdf>
- Díaz, E. (2017). Impacto de diferentes estrategias de explotación sobre el estado inmediato del stock norte -centro de la anchoveta peruana (*Engraulis ringens*). *Instituto del Mar del Perú - IMARPE*. <https://repositorio.imarpe.gob.pe/handle/20.500.12958/3171>
- Dueñas, T. G. A. (2008). *Recuento de Vibrio parahaemolyticus Kanagawa positivo en especies marinas de consumo en Lima Metropolitana y Callao* [Tesis de

- Químico Farmacéutico, Universidad Nacional Mayor de San Marcos].
<https://hdl.handle.net/20.500.12672/1628>
- El Zowalaty, M., Falgenhauer, L., Forsythe, S., & Helmy, Y. (2023). Draft genome sequences of rare *Lelliottia nimipressuralis* strain MEZLN61 and two *Enterobacter kobei* strains MEZEK193 and MEZEK194 carrying mobile colistin resistance gene *mcr-9* isolated from wastewater in South Africa— ScienceDirect. *Revista Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 33, 231-237. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213716523000504>
- España-Mindiolaza, S., Revelo-Ramírez, W., & Vergara, G. (2024). Biología pesquera de la gallineta, *Prionotus stephanophrys* (Lockington, 1880), procedentes de la flota polivalente durante el 2017 y 2018 en Ecuador. *La Técnica. Revista de las Agrociencias*. ISSN 2477-8982, 14, 45-52. <https://doi.org/10.33936/latecnica.v14i1.6292>
- Gamarra, J. A. (2020). *Factores contaminantes que influyen en el crecimiento bacteriano (Escherichia Coli y Salmonella Spp) en el pescado fresco comercializado en el Mercado de Tingo María – Hco- 2019*. [Tesis de Médico Veterinario, Universidad Nacional Hermilio Valdizán]. <http://repositorio.unheval.edu.pe/handle/20.500.13080/5846>
- Global Biodiversity Information Facility [GBIF]. (2023). *Distribución de peces dulceacuícolas en el pacífico sur del Perú*. <https://www.gbif.org/es/>
- Green, C. (2011). *Estructura de la comunidad de los peces de fondo de la costa occidental de la península de Baja California, México*. [Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.]. http://dspace.cibnor.mx:8080/bitstream/handle/123456789/328/green_c.pdf?sequence

- Guin, S., Saravanan, M., Anjay, null, Chowdhury, G., Pazhani, G. P., Ramamurthy, T., & Chandra Das, S. (2019). Pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in diarrhoeal patients, fish and aquatic environments and their potential for inter-source transmission. *Revista Heliyon*, 5(5), e01743. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01743>
- Haroun, R., Vergara Martín, J. M., & González-Henríquez, N. (2005). *Evaluación de impacto ambiental de acuicultura en jaulas en Canarias*. <https://accedacris.ulpgc.es/jspui/handle/10553/1701>
- Hernández, C. E. L., Guardado, J. A. V., Ruano, C. A. R., Alvarenga-Artiga, R. F., & Ramos, M. E. S. (2020). Determinación de la calidad microbiológica de pescado fresco comercializado en el área de mariscos del mercado de mayoreo “La Tiendona”, El Salvador. *Revista Agrociencia*, 3(15), Article 15.
- Herrera, F. C., & Santos, J. Á. (2005). Prevalencia de *Salmonella* spp en pescado fresco expandido en Pamplona (Norte de Santander). *Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*, 3(2), 34-42.
- Instituto del Mar del Perú [Imarpe]. (2021). *Reporte de abastecimiento de mercados con productos hidrobiológicos provenientes de la pesca artesanal del litoral peruano y el Lago Titicaca*. <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/2110026/Reporte%20de%20Abastecimientos%20julio%202021.pdf>
- Lozada, M. S. (2020). *Influencia de la frescura de la materia prima del falso volador (*Prionatus stephanaphyrus*) en la calidad de la fuerza de gel del surimi*.
- Marín, C., Fonseca, C., Arias, S., Villegas, I., García, A., & Ishihara, H. (2009). Carga bacteriana de los peces *Cynoscion squamipinnis* (Perciformes:

- Scianidae) y *Lutjanus guttatus* (Perciformes: Lutjanidae) en la cadena de comercialización, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 57(1-2), 45-52.
- Martinez, B. L., & Romero, M. S. D. (2015). *Evaluación de la calidad microbiológica de pescado crudo comercializado en el Muelle del Puerto de la Libertad* [Universidad de El Salvador]. <https://oldri.ues.edu.sv/id/eprint/9326/>
- Medicina-Di-Paolo, J. A. (2014). Pesca artesanal en el Perú. *Ingeniería Industrial*, 032, Article 032. <https://doi.org/10.26439/ing.ind2014.n032.115>
- Ministerio de la producción. (2010). *Aprueban Plan Nacional de Desarrollo de Infraestructura Pesquera para Consumo Humano Directo*. <https://www2.produce.gob.pe/dispositivos/publicaciones/2010/agosto/ds011-2010-produce.pdf>
- Ministerio de Pesquería. (2001). *Resolución Ministerial N° 209-2001/PE. Ministerio de Pesquería*. http://www.sanipes.gob.pe/documentos/13_R.M.209-2001-PEApruebanRelaciondeTallasMinimasdeCapturayToleranciaMaximadeEje mplaresJuvenilesdePrincipalesPecesMarinoselInvertebrados.pdf
- National Shellfish Sanitation Program [NSSP]. (2020). *Guide for the Control of Molluscan Shellfish 2019 Revision*. FDA. <https://www.fda.gov/food/federalstate-food-programs/national-shellfish-sanitation-program-nssp>
- Navarro, J. L. (2017). *Evaluación de la calidad microbiológica de *Trachurus picturatus murphyi* “jurel” y *Aulacomya ater* “choro” comercializados en diferentes mercados de los distritos de San Juan de Lurigancho y San Martín de Porres, Lima—Perú* [Tesis de Bióloga Microbióloga Parasitóloga, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/7310>

- Pedraza, J. G., Sanandres, N. P., Varela, Z. S., Aguirre, E. H., & Camacho, J. V. (2014). Aislamiento microbiológico de *Salmonella* spp. Y herramientas moleculares para su detección. *Revista Salud Uninorte*. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81730850009>
- Pérez, M., & Castañeda, J. (2018). *Principales peces asociados a la fauna acompañante de la merluza durante el otoño*. Instituto del Mar del Perú. <https://repositorio.imarpe.gob.pe/handle/20.500.12958/3272>
- Porres, A. Y. (2019). *Determinación de la presencia de Salmonella spp. En tilapia fresca (Oreochromis niloticus) para el consumo humano en el Mercado la Terminal, ubicado en la zona 4 de la ciudad de Guatemala* [Tesis de Médica Veterinaria, Universidad de San Carlos de Guatemala]. <http://www.repositorio.usac.edu.gt/12615/>
- Quezada, B. A. (2023). *Evaluación de la eficiencia de la radiación UV-C en la eliminación de Escherichia coli y bacterias aéreas mesófilas en masas de agua, empleadas en enlatados de pescado*. [Tesis de Biólogo, Universidad Estatal Península de Santa Elena]. <https://repositorio.upse.edu.ec/handle/46000/9671>
- Rabiela. (2015). Higiene y conservación del pescado. *Hospitalidad ESDAI*, 28, 41-60. <https://revistas.up.edu.mx/ESDAI/article/view/1482/1214>
- Rajme-Manzur, D., Hernández-López, J., Martínez-Porchas, M., Vargas-Albores, F., Garibay-Valdez, E., Coronado-Molina, D. E., Hernández-Oñate, M. Á., Vázquez-Ramírez, F., Velázquez-Valencia, Luis Alfonso, & Santacruz, A. (2023). *Staphylococcus haemolyticus and Providencia vermicola Infections Occurring in Farmed Tilapia: Two Potentially Emerging Pathogens*. 13(3715). <https://www.mdpi.com/2076-2615/13/23/3715>

- Reglamento Centro Americano [RTCA]. (2009). *Criterios microbiológicos para la inocuidad de los alimentos* (No. 2). https://www.oirsa.org/contenido/2017/El_Salvador_INOCUIDAD/26.%20RTCA%2067%2004%2050%2008%20CRITERIOS%20MICROBIOLOGICOS%20PARA%20LA%20INOCUIDAD%20DE%20ALIMENTOS.pdf
- Rosec, J.-P., Causse, V., Cruz, B., Rauzier, J., & Carnat, L. (2012). The international standard ISO/TS 21872-1 to study the occurrence of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholerae* in seafood: ITS improvement by use of a chromogenic medium and PCR. *Revista International Journal of Food Microbiology*, 157(2), 189-194. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.04.026>
- Sánchez, J. D., Venegas, M. C., & Delgado, M. del P. (2015). *Aislamiento e identificación de aeromonas spp. B-hemolíticas y vibrio spp. Potencialmente virulentos, en pescados y mariscos comercializados en Bogotá, Colombia*. <http://hdl.handle.net/1992/12771>
- Sánchez, L. P. (2020). *Caracterización molecular de aislamientos de Vibrio spp., recuperados de cuerpos de agua en Colombia y recuperados a través de la vigilancia por laboratorio de Microbiología del Instituto Nacional de Salud (INS)* [Tesis de Maestra en Ciencias Microbiológicas, Universidad Nacional de Colombia]. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/78100>
- Sanipes. (2009). *Manual de métodos de ensayo para mariscos y agua*. http://www.sanipes.gob.pe/procedimientos/7_ManualSANIPESactualizada.pdf

- Sanipes. (2016). *Resolución de dirección ejecutiva N° 057-2016. Indicadores Sanitarios y de Inocuidad para los Productos Pesqueros y Acuícolas para Mercado Nacional y de Exportación*. http://www.sanipes.gob.pe/normativas/15_R_DE_N_057_2016_A1.pdf
- Silvestre, M. (2022). *Factores de riesgo que influyen en el crecimiento bacteriano (Escherichia coli y Salmonella spp) en pescado Jurel (Trachurus Murphyi) comercializado en los principales mercados de Huánuco – 2022* [Tesis de Médico Veterinario, Universidad Nacional Hermilio Valdazán]. <https://hdl.handle.net/20.500.13080/8108>
- Tafur, L. R. T., Álvarez, C., Turpo, J. T., & Robles, R. A. R. (2019). Presencia de bacterias patógenas zoonóticas en el tracto digestivo de pescados de origen marino comercializados en el mercado de abastos de Tingo María. *Revista Investigación y Amazonía*, 9(7), 22-29.
- Valtek diagnostics. (2010). *COMBI-PLATE Agar MacConkey / Agar Salmonella – Shigella (SS)*. Valtek diagnostics. <https://www.valtek.cl/wp-content/uploads/2020/06/COMBI-PLATE-Agar-MacConkeyAgar-SS-Valtek.pdf>
- Vaneci-Silva, D., Assane, I. M., De Oliveira Alves, L., Cardoso Gomes, F., Bilha Moro, E., Kotzent, S., Pitondo-Silva, A., & Pilarski, F. (2022). *Klebsiella pneumoniae causing mass mortality in juvenile Nile tilapia in Brazil: Isolation, characterization, pathogenicity and phylogenetic relationship with other environmental and pathogenic strains from livestock and human sources—* ScienceDirect. *Revista de Aquaculture*. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737376>

Vergara, A. N. (2023). *Coliformes fecales en Anadara tuberculosa comercializada en los centros de acopio de la región Tumbes 2022* [Tesis de Ingeniera Industrial Pesquera, Universidad Nacional de Tumbes].
[https://repositorio.untumbes.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12874/64176/](https://repositorio.untumbes.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12874/64176/TESIS%20-%20VERGARA%20ALFARO.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
[TESIS%20-%20VERGARA%20ALFARO.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.untumbes.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12874/64176/TESIS%20-%20VERGARA%20ALFARO.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

ANEXOS

Anexo 1

Tabla 16. Parámetros de calidad del ADN extraído, evaluado mediante espectrofotometría.

Código de la cepa	ng/ μ l	260/280 nm	260/230 nm
1 CF	179,8	1,85	0,94
M3-77	333,0	1,83	1,00
2 LC-35	804,5	1,93	1,38
Cg 95	369,1	1,88	1,11
LC 96	250,4	2,00	1,14
29 VP	772,1	1,95	1,34

Anexo 2. Fotografías de la ejecución de la tesis



Figura 2: Obtención de los ejemplares de falso volador: a) Zona de desembarque Caleta La Cruz, b) Zona de desembarque Caleta Grau, c) Desembarcadero de Puerto Pizarro, d) Mercado Modelo de Tumbes, e) Mercado Municipal Contralmirante Villar Zorritos y f) Mercado de Zarumilla.

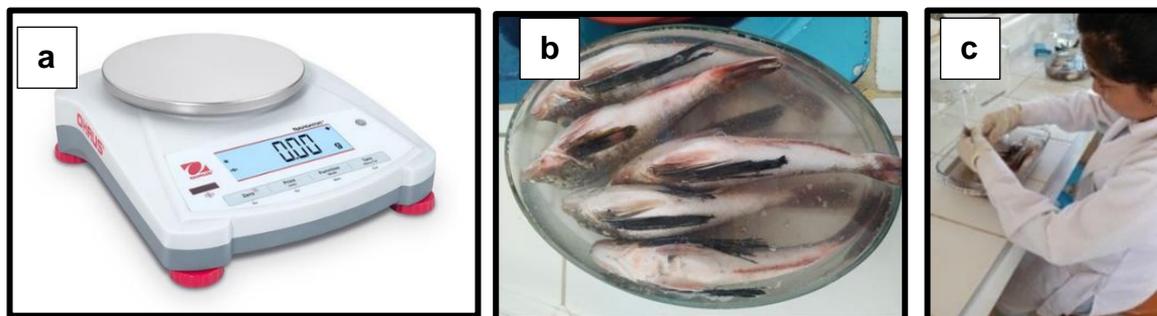


Figura 3. Pesado y procesamiento inicial de *Prionotus stephanophrys*: A) Determinación del peso, b) Piezas sumergidas en solución clorada al 0,2 ppm y c) Fricción de los ejemplares para retirar su mucus.



Figura 4. Retiro de escamas en los ejemplares para extraer sus tejidos.

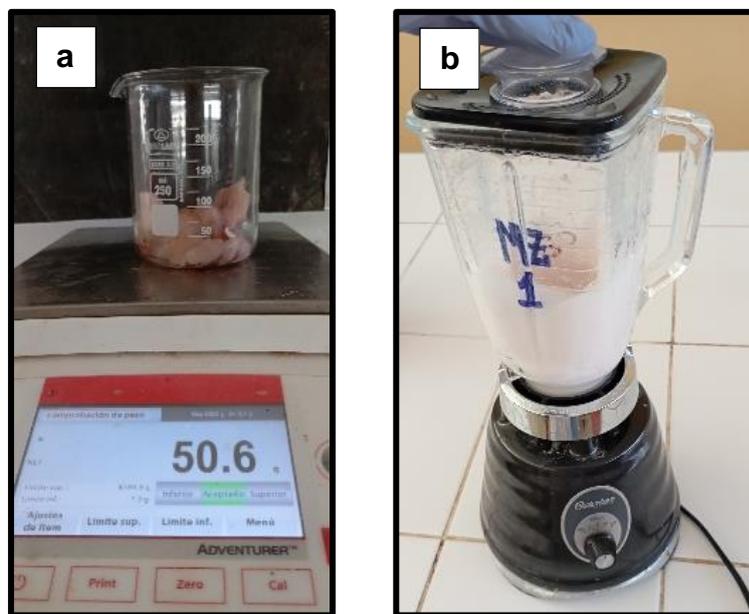


Figura 5. Homogenización del tejido con solución Butterfield: a) Pesado de 50 g de la muestra y b) homogenización de tejidos usando solución Butterfield.

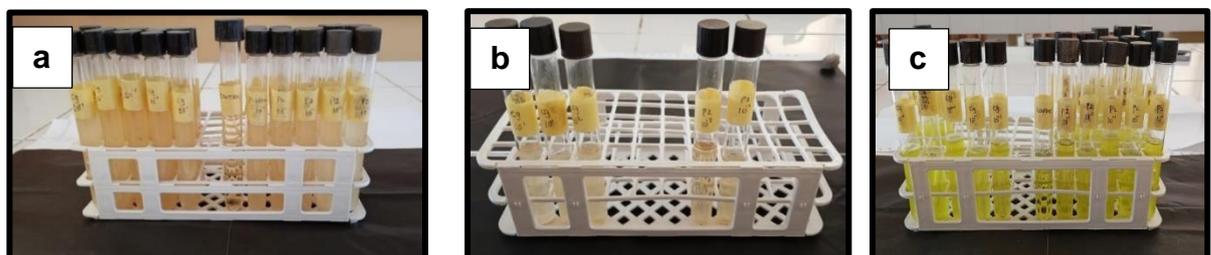


Figura 6. Prueba presuntiva para coliformes y *E. coli*: a) Tubos positivos para coliformes totales, b) Tubos positivos para *E. coli*, c) Tubos positivos para coliformes fecales.

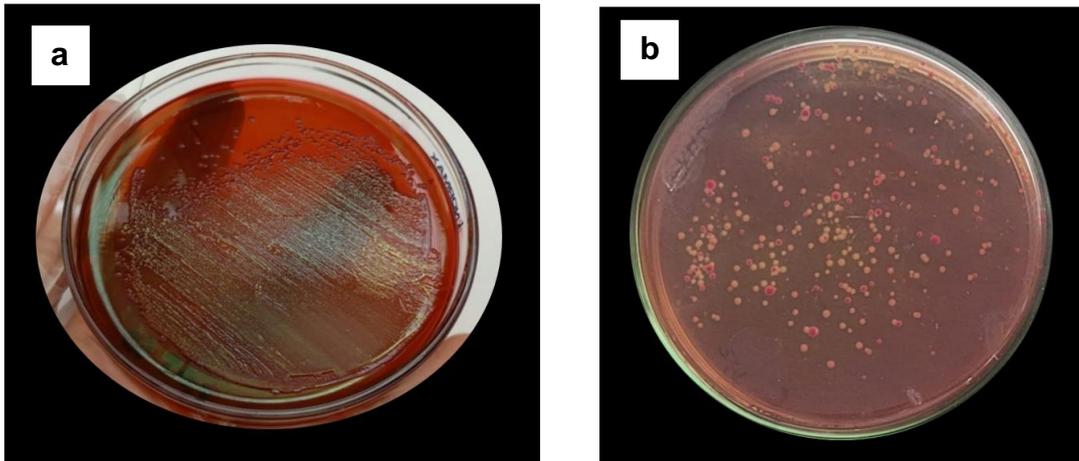


Figura 7. Prueba confirmativa en medios sólidos: a) Crecimiento de colonias de *Escherichia coli* en medio eosina y b) Crecimiento de colonias de coliformes en medio Mac Conkey.

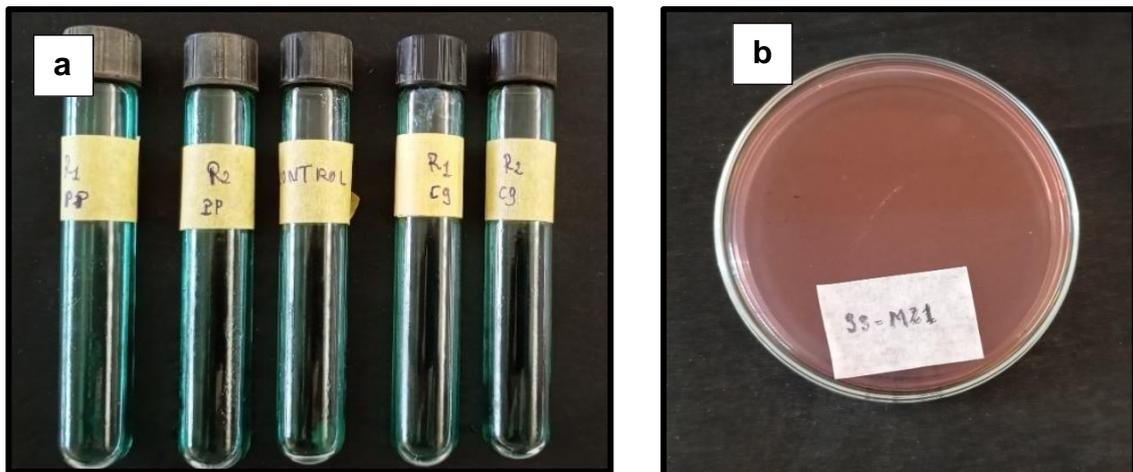


Figura 8. Prueba presuntiva de *Salmonella* spp.: a) Siembra en tubos de caldo Rapaport (RVS) y b) Siembra en medio sólido y resultado ausente para *Salmonella* spp.

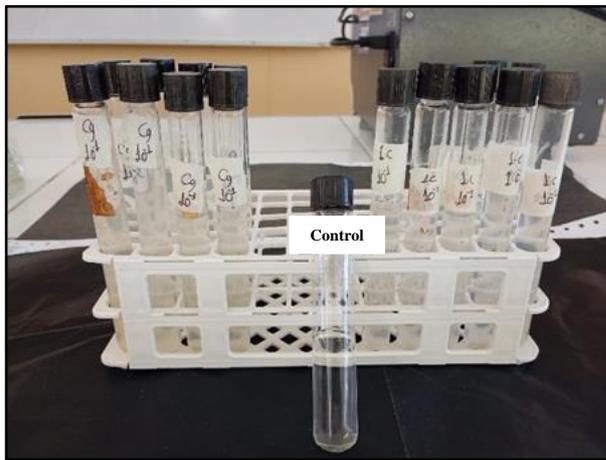


Figura 9. Detección de *Vibrio parahaemolyticus*: A) Tubos positivos para *Vibrio parahaemolyticus* B) Crecimiento de colonias de *Vibrio parahaemolyticus* en medio TCBS.



Figura 10. Unidades formadoras de colonias confirmativas de coliformes fecales, *E. coli*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio cholerae* puras en medio TSA.

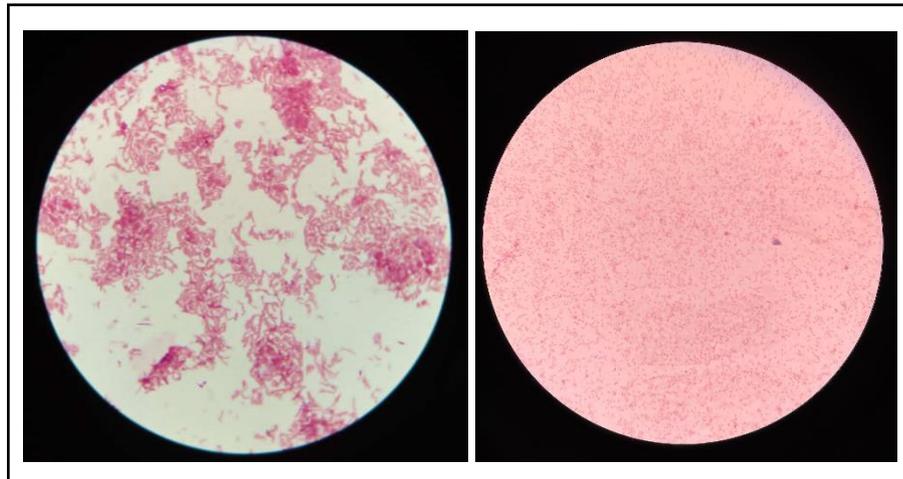


Figura 11. Observación microscópica aumentado a 1000 X de bacterias coliformes, *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio cholerae* teñidas con tinción de Gram.

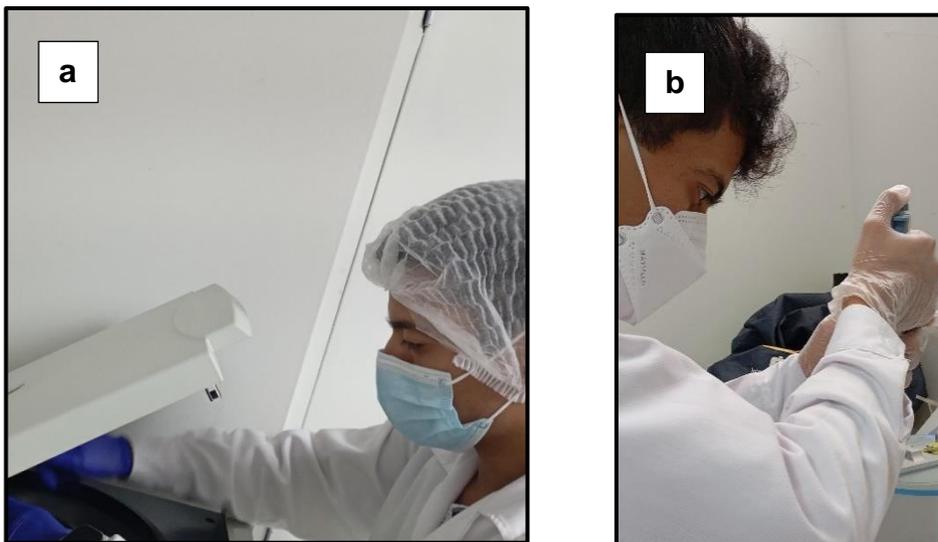


Figura 12. Extracción de ADN con el protocolo PBS 1X: a) Colocación de los microtubos a la centrifuga y b) Cuantificación del ADN.

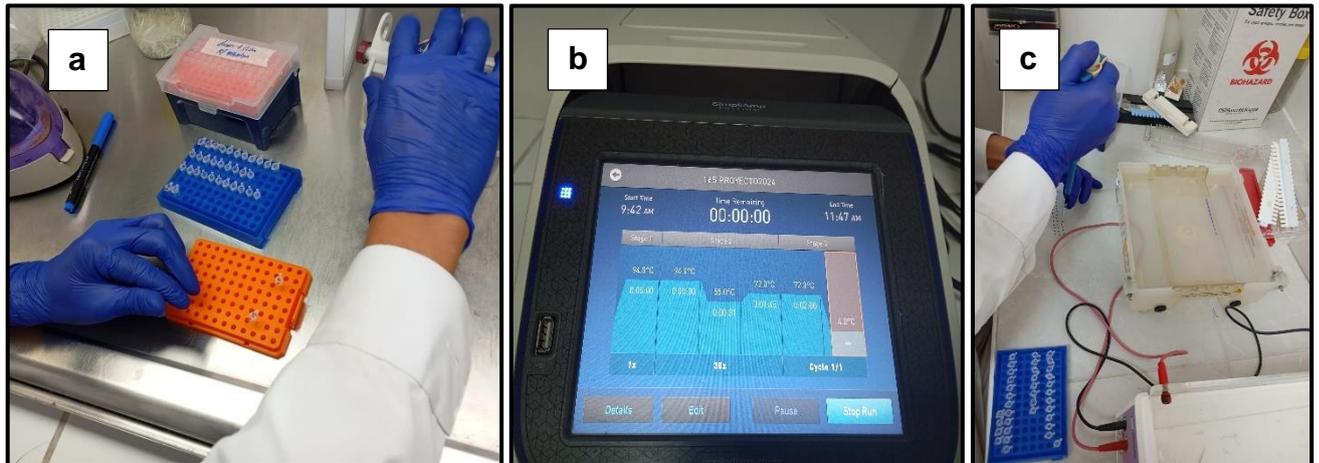


Figura 13. Amplificación de un fragmento del gen 16S ARNr mediante PCR: a) Amplicones para migración del ADN, b) parámetros para la programación de PCR y c) Buffer de carga en el gel para la electroforesis.

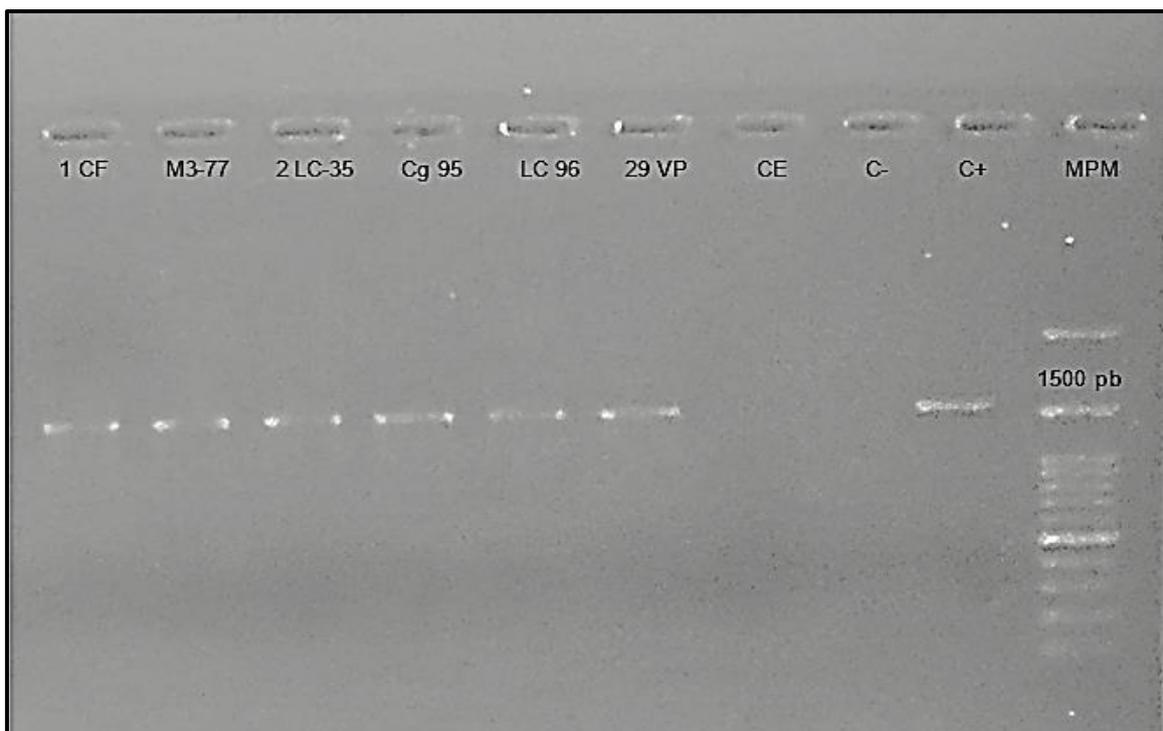


Figura 14. Migración de amplicones en gel de agarosa de un fragmento del gen 16S ARNr de bacterias aisladas, MPM: marcador de peso molecular, CE: Control de extracción, C-: control negativo.

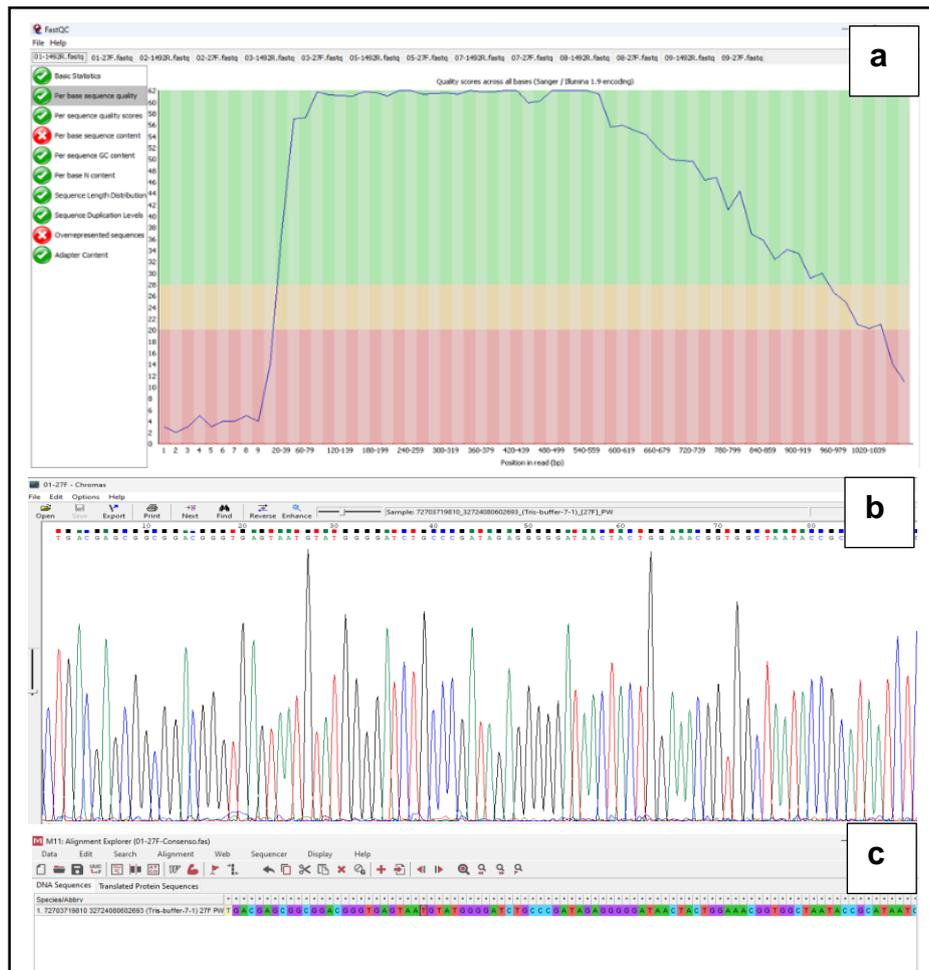


Figura 15. Procesamiento de secuencias de ADN utilizando softwares de bioinformática: a) FastQC, b) Chromas y c) Mega 11.

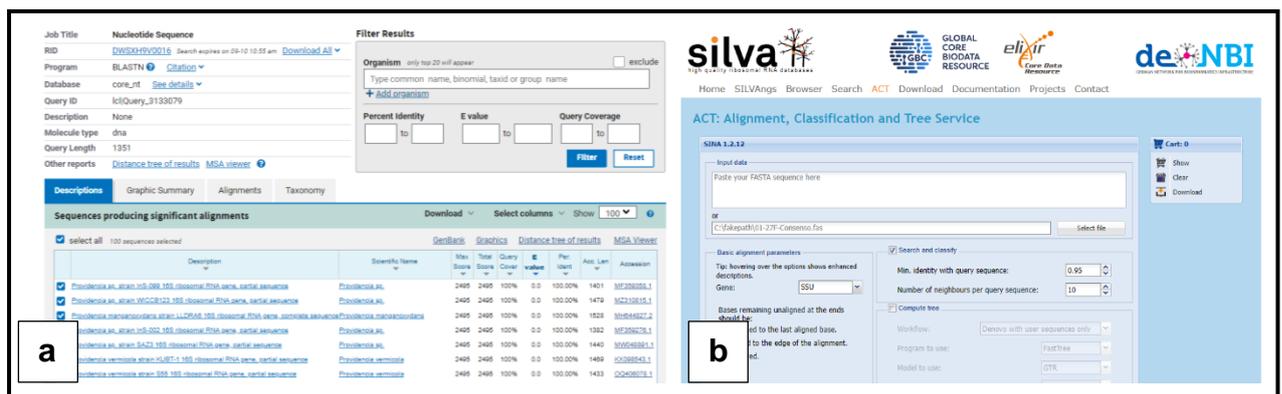


Figura 16. Búsqueda de secuencias de ADN en bases de datos bioinformáticas para determinar la identidad de la cepa: a) Genbank y b) Silva.

Anexo 3

Tabla 17. Tabla ISO 7218: 2007 para establecer el Numero más probable en gramos en base a tres diluciones.

N° resultados positivos por inoculo en volumen (ml y g)			NMP ml o g	Log 10 ^M	Desviación estándar log 10 ^M	95% de límite de confianza		Índice de rareza	Categoría
1	0,1	0,01				Inferior	Inferior		
0	0	0	0,00	NA	NA	0,00	0,66	1,00	1
0	1	0	0,18	-0,74	0,43	0,02	1,34	0,09	1
1	0	0	0,20	-0,70	0,44	0,03	1,47	1,00	1
1	0	1	0,40	-0,40	0,31	0,10	1,65	0,02	2
1	1	0	0,40	-0,39	0,31	0,10	1,66	0,21	1
1	2	0	0,61	-0,21	0,25	0,19	1,96	0,02	2
2	0	0	0,45	-0,35	0,31	0,11	1,86	1,00	1
2	0	1	0,68	-0,17	0,25	0,21	2,18	0,03	2
2	1	0	0,68	-0,16	0,25	0,21	2,2	0,35	1
2	1	1	0,92	-0,04	0,22	0,33	2,55	0,02	2
2	2	0	0,93	-0,03	0,22	0,34	2,58	0,06	1
3	0	0	0,78	-0,11	0,26	0,24	2,54	1,00	1
3	0	1	1,1	0,02	0,22	0,38	3,00	0,05	1
3	1	0	1,1	0,03	0,22	0,38	3,02	0,57	1
3	1	1	1,4	0,14	0,20	0,54	3,48	0,03	2
3	2	0	1,4	0,14	0,20	0,54	3,53	0,15	1
3	2	1	1,7	0,23	0,19	0,72	4,02	0,10	2
3	3	0	1,7	0,24	0,19	0,73	4,09	0,03	2
4	0	0	1,3	0,11	0,23	0,44	3,72	1,00	1
4	0	1	1,7	0,22	0,21	0,62	4,4	0,08	1
4	1	0	1,7	0,23	0,21	0,63	4,5	0,92	1
4	1	1	2,1	0,33	0,20	0,85	5,28	0,07	1
4	2	0	2,2	0,33	0,20	0,86	5,41	0,31	1
4	2	1	2,6	0,42	0,19	1,1	6,31	0,03	2
4	3	0	2,7	0,43	0,19	1,1	6,5	0,07	1
4	4	0	3,4	0,53	0,18	1,4	7,8	0,01	2
5	0	0	2,3	0,36	0,24	0,76	7,0	0,77	1
5	0	1	3,1	0,50	0,24	1,0	9,4	0,09	1
5	1	0	3,3	0,52	0,24	1,1	10	1,00	1
5	1	1	4,6	0,66	0,25	1,5	14	0,20	1
5	1	2	6,3	0,80	0,24	2,1	19	0,02	2
5	2	0	4,9	0,69	0,26	1,5	16	1,00	1
5	2	1	7,0	0,84	0,24	2,3	22	0,36	1
5	2	2	9,4	0,97	0,22	3,4	26	0,06	1
5	3	0	7,9	0,90	0,25	2,5	25	1,00	1
5	3	1	11	1,0	0,22	3,9	31	0,57	1
5	3	2	14	1,1	0,20	5,5	36	0,15	1
5	3	3	17	1,2	0,19	7,4	42	0,03	2
5	4	0	13	1,1	0,23	4,4	38	1,00	1
5	4	1	17	1,2	0,21	6,4	46	0,94	1
5	4	2	22	1,3	0,20	8,8	56	0,30	1
5	4	3	28	1,4	0,19	12,0	67	0,07	1
5	4	4	35	1,5	0,18	15,0	81	0,01	2
5	5	0	24	1,4	0,24	7,8	74	0,74	1
5	5	1	35	1,5	0,25	11	110	1,00	1
5	5	2	54	1,7	0,27	16	190	1,00	1
5	5	3	92	2,0	0,26	28	300	1,00	1
5	5	4	160	2,2	0,24	53	490	1,00	1
5	5	5	∞	NA	NA	65	∞	1,00	1