

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

ESCUELA DE POSGRADO



UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS

TESIS:

IDENTIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LOS AGENTES BACTERIANOS DE LINFADENITIS CERVICAL EN CUYES (*Cavia porcellus*) EN LA ZONA SUR DE LA REGIÓN CAJAMARCA

Para optar el Grado Académico de

DOCTOR EN CIENCIAS

MENCIÓN: CIENCIAS VETERINARIAS

Presentada por:

M.Cs. MEDALI CUEVA RODRÍGUEZ

Asesor:

Dr. MARCO ANTONIO CABRERA GONZÁLEZ

Cajamarca, Perú

2025

CONSTANCIA DE INFORME DE ORIGINALIDAD

1. Investigador:
Medali Cueva Rodríguez
DNI: 46196989
Escuela Profesional/Unidad de Posgrado de la Facultad de Ciencias Veterinarias.
Programa de Doctorado en Ciencias, Mención: Ciencias Veterinarias.
2. Asesor(a): Dr. Marco Antonio Cabrera González
3. Grado académico o título profesional
☐ Bachiller ☐ Título profesional ☐ Segunda especialidad
☐ Maestro ☒ Doctor
4. Tipo de Investigación:
☒ Tesis ☐ Trabajo de investigación ☐ Trabajo de suficiencia profesional
☐ Trabajo académico
5. Título de Trabajo de Investigación:
IDENTIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LOS
AGENTES BACTERIANOS DE LINFADENITIS CERVICAL EN CUYES (*Cavia porcellus*)
EN LA ZONA SUR DE LA REGIÓN CAJAMARCA
6. Fecha de evaluación: **22/12/2025**
7. Software antiplagio: ☒ TURNITIN ☐ URKUND (OURIGINAL) (*)
8. Porcentaje de Informe de Similitud: **22%**
9. Código Documento: **3117:542708782**
10. Resultado de la Evaluación de Similitud:
☒ **APROBADO** ☐ PARA LEVANTAMIENTO DE OBSERVACIONES O DESAPROBADO

Fecha Emisión: **22/12/2025**

<i>Firma y/o Sello Emisor Constancia</i>	
 Dr. Gilberto Fernández Idrogo DNI: 26600483	 Dr. Marco Antonio Cabrera González DNI: 26693011

* En caso se realizó la evaluación hasta setiembre de 2023

COPYRIGHT@ 2025 by
MEDALI CUEVA RODRÍGUEZ
Todos los derechos reservados



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

LICENCIADA CON RESOLUCIÓN DE CONSEJO DIRECTIVO N° 080-2018-SUNEDU/CD

ESCUELA DE POSGRADO

CAJAMARCA – PERU

PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Siendo las 11:30 horas, del día 10 de Septiembre de dos mil veinticinco, reunidos en el Aula 1Q-206 de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, el Jurado Evaluador presidido por el **PH. D. PEDRO LUIS ORTIZ OBLITAS, DR. WILDER QUISPE URTEAGA, DR. GILBERTO FERNÁNDEZ IDROGO**, y en calidad de Asesor el **DR. MARCO ANTONIO CABRERA GONZÁLEZ**. Actuando de conformidad con el Reglamento Interno y el Reglamento de Tesis de Maestrías y Doctorados de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, se inició la Sustentación de la TESIS titulada: **“IDENTIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LOS AGENTES BACTERIANOS DE LINFADENITIS CERVICAL EN CUYES (*Cavia porcellus*) EN LA ZONA SUR DE LA REGIÓN CAJAMARCA”**, presentada por la Maestro en Ciencias en Mención, Producción Animal **MEDALI CUEVA RODRÍGUEZ**.

Realizada la exposición de la TESIS y absueltas las preguntas formuladas por el Jurado Evaluador, y luego de la deliberación, se acordó Aprobar con la calificación de buena (15) la mencionada TESIS; en tal virtud, la Maestro en Ciencias en Mención, Producción Animal, **MEDALI CUEVA RODRÍGUEZ**, se encuentra apta para recibir en ceremonia especial el Diploma que la acredita como **DOCTOR EN CIENCIAS**, de la Unidad de Posgrado de la Facultad de **CIENCIAS VETERINARIAS**, con mención en **CIENCIAS VETERINARIAS**.

Siendo las 13:00 horas del mismo día, se dio por concluido el acto.


.....
Dr. Marco Antonio Cabrera González
Asesor


.....
Ph. D. Pedro Luis Ortiz Oblitas
Jurado Evaluador


.....
Dr. Wilder Quispe Urteaga
Jurado Evaluador


.....
Dr. Gilberto Fernández Idrogo
Jurado Evaluador

DEDICATORIA

A Dios por darme la vida, salud y
haber logrado este objetivo.

A mi esposo Manuel,
compañero de vida, por su
apoyo incondicional para
obtener este gran logro en mi
vida. A mis hijos Camilo
Emmanuel y Leonardo Kaleth
por ser el pilar y motivo de
levantarme cada día a pesar
de las dificultades que se
puedan presentar.

A mis padres: LUCILA y MANUEL
quienes

son los pilares importantes en todo el trayecto
de mi vida.

A mis hermanos: Gladis, Oscar,
Yudith, Tatiana, siempre con su apoyo
incondicional y fundamental en cada
instante de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A los docentes de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca y de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por sus sabios conocimientos brindados durante el desarrollo de esta investigación.

A los investigadores del laboratorio de Biotecnología en Sanidad Animal-Instituto Nacional de Innovación Agraria-INIA-Baños del Inca-Cajamarca y al Laboratorio de Microbiología del Departamento de Ciencias Biológicas de la UNC por el apoyo prestado para llevar a cabo el trabajo de investigación.

CONTENIDO

Ítem	
Página	
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTOS	vi
ÍNDICE DE TABLAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xii
CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II	5
MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. Antecedentes de investigación.....	5
2.2. Bases teóricas.....	9
2.2.1. El cuy o cobayo.....	9
2.2.2. Ganglios linfáticos	10
2.2.3. Sistema linfático	10
2.2.4. Tejido linfoide	10
2.2.5. Linfadenitis cervical.....	11
2.2.5.1. Epidemiología.....	11
2.2.5.2. Patogenia	12
2.2.5.3. Transmisión	13
2.2.5.4. Signos clínicos.....	14
2.2.5.5. Diagnóstico morfológico	14
2.2.5.6. Resultados del examen físico	14
2.2.5.7. Diagnóstico diferencial.....	15
CAPÍTULO III	23
DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS	23
3.1. Localización	23
3.2. Diseño de investigación	24
3.3. Población, muestra y unidad de análisis	24
3.4. Identificación de los cuyes positivos a Linfadenitis	25
3.5. Toma de muestra	25

3.6. Identificación microbiológica	26
3.6.1. Aislamiento de los agentes bacterianos.....	26
3.6.2. Identificación morfológica de los agentes bacterianos	26
3.7. Pruebas bioquímicas.....	27
3.8. Extracción de ADN genómico	27
3.9. Amplificación del gen 16S ARNr	27
3.10. Amplificación del gen Strep-spp.....	28
3.11. Secuenciamiento	28
3.12. Análisis estadístico	29
3.13. Aprobación ética	29
CAPÍTULO IV	30
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
4.1. Identificación de los cuyes positivos a Linfadenitis cervical en cuyes según lugar de procedencia.....	30
4.2. Caracterización morfológica y bioquímica de aislados bacterianos	31
4.3. Amplificación del gen 16S ARNr	36
4.4. Amplificación del gen Strep- spp.....	36
4.5. Identificación molecular mediante el gen ARN 16S	38
CAPÍTULO V	181
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	181
5.1. Conclusiones.....	181
5.2. Recomendaciones	182
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	183
ANEXOS	193

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Identificación microbiológica de los agentes causales de Linfadenitis cervical en cuyes en Cajamarca, Cajabamba y San Marcos.....	31
Tabla 2. Identificación bioquímica de los agentes causales de Linfadenitis cervical en cuyes en Cajamarca, Cajabamba y San Marcos	32

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de los lugares de muestreo en la región Cajamarca	23
Figura 2. Resultados de del aislamiento con código M22	34
Figura 3. Resultados del aislamiento con código M15	34
Figura 4. Resultados del aislamiento con código M18	35
Figura 5. Resultados del aislamiento con código M27.	35
Figura 6. Electroforesis en el gel de agarosa al 1% del gen 16S ARNr	36
Figura 7. Electroforesis en gel de agarosa al 1% del gen Strep- spp.....	37

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue identificar microbiológicamente y molecularmente a los agentes bacterianos más frecuentes causantes de linfadenitis cervical en cuyes. Se realizó un muestreo a 267 cuyes positivos a linfadenitis, siendo 176 de Cajamarca, 32 de San Marcos y 59 de Cajabamba. Se identificaron los cuyes positivos a linfadenitis mediante detección de abscesos en la región cervical. La identificación de las bacterias se realizó a través de la caracterización morfológica, microscópica y pruebas bioquímicas utilizando varios medios como TSI, LIA, Agar SIM y prueba de catalasa. Para la identificación molecular se realizó la extracción de ADN utilizando la técnica de Shock térmico, luego se amplificó el gen 16S ARNr mediante PCR. Los productos de PCR fueron secuenciados mediante secuenciamiento Sanger. Las secuencias obtenidas fueron curadas y analizadas a través de softwares bioinformáticos hasta obtener la secuencia consenso. La identificación molecular se realizó comparando las secuencias obtenidas con la base de datos NCBI. Las técnicas microbiológicas permitieron obtener 242 aislamientos bacterianos, distribuidos en 32 (13,17 %) de San Marcos, 59 (24,4 %) de Cajabamba y 151 (62,4 %) de Cajamarca. Los aislamientos incluyeron Enterobacterias con una prevalencia de 46,9 % en San Marcos, en Cajamarca 9,3%, *Streptococcus* spp, con una prevalencia de 43,8 % en San Marcos, 100 % en Cajabamba y 85,4 % en Cajamarca; *Staphylococcus* spp. (9,4 % de San Marcos, 0 % de Cajabamba y 5,3 % de Cajamarca). Por otro lado, la identificación molecular evidenció que el principal agente es *Hafnia alvei*, seguido de *Salmonella* sp, *Vibrio metschnikovii*, *Enterobacter cloacae* y otras *Enterobacteriaceae*. Estos hallazgos resaltan la diversidad de patógenos bacterianos presentes en los casos de linfadenitis en cuyes de la región.

Palabras clave: Cuy, linfadenitis, ganglios linfáticos, amplificación de ADN

ABSTRACT

The objective of this study was to microbiologically and molecularly identify the most common bacterial agents causing cervical lymphadenitis in guinea pigs. A sample of 267 guinea pigs positive for lymphadenitis was taken, 176 from Cajamarca, 32 from San Marcos, and 59 from Cajabamba. Guinea pigs positive for lymphadenitis were identified by detecting abscesses in the cervical region. The bacteria were identified through morphological and microscopic characterization and biochemical tests using various media such as TSI, LIA, SIM agar, and catalase test. For molecular identification, DNA was extracted using the heat shock technique, and then the 16S rRNA gene was amplified by PCR. The PCR products were sequenced using Sanger sequencing. The sequences obtained were curated and analyzed using bioinformatics software until the consensus sequence was obtained. Molecular identification was performed by comparing the sequences obtained with the NCBI database. Microbiological techniques yielded 242 bacterial isolates, distributed as follows: 32 (13.17%) from San Marcos, 59 (24.4%) from Cajabamba, and 151 (62.4%) from Cajamarca. The isolates included Enterobacteriaceae with a prevalence of 46.9% in San Marcos and 9.3% in Cajamarca; Streptococcus spp. with a prevalence of 43.8% in San Marcos, 100% in Cajabamba, and 85.4% in Cajamarca; Staphylococcus spp. (9.4% in San Marcos, 0% in Cajabamba, and 5.3% in Cajamarca). On the other hand, molecular identification showed that the main agent is *Hafnia alvei*, followed by *Salmonella* sp, *Vibrio metschnikovii*, *Enterobacter cloacae*, and other *Enterobacteriaceae*. These findings highlight the diversity of bacterial pathogens present in cases of lymphadenitis in guinea pigs in the region.

Keywords: Guinea pig, lymphadenitis, lymph nodes, DNA amplification

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El cuy (*Cavia porcellus*) (Shomer, Holcombe y Harkness, 2015) es un animal mamífero que tuvo su origen en la Cordillera de los Andes de Colombia, Ecuador, Bolivia y Perú, son utilizados por la población principalmente como fuente de alimentación porque su carne proporciona una fuente alta en proteína y bajo en grasa, también se utilizan en algunas tradiciones que aún se preservan en la actualidad (Avilés et al., 2014). Estas características en conjunto con otras propias del animal como su prolificidad, crecimiento rápido, dieta flexible y adaptación a una amplia gama de climas, los ha convertido en la actualidad en un importante ingreso económico para quienes los crían en grandes cantidades (Sánchez-Macías et al., 2018). La crianza de esta especie se ha realizado de manera tradicional en espacios reducidos junto con las cocinas de las familias en las zonas rurales que presentan bajos ingresos económicos, estando en la necesidad de optimizar la crianza y generar mejores ingresos económicos, se ha realizado la mejora de la crianza con sistemas de producción comercial, mejoramiento genético, para la obtención de nuevas razas y líneas con fines comerciales. En el Perú, la población de cuyes es de 12' 695,030 a nivel nacional y en la región Cajamarca de 2'408,094, convirtiéndose en una fuente económica importante para la región (INEI, 2012).

Los cuyes tienen diferencias anatómicas y fisiológicas que pueden predisponerlos a enfermedades únicas (O'Rourke, 2020), son sensibles y susceptibles a diferentes enfermedades y al desarrollo de lesiones por una amplia variedad de virus, bacterias, protozoos y parásitos, solo una pequeña cantidad de estos organismos causan infección natural y una parte de ese grupo causa enfermedad clínica (Brabb et al., 2012), algunas de las cuales pueden ser fatales de manera rápida sin atención veterinaria inmediata. Las infecciones bacterianas son causas frecuentes de enfermedades respiratorias y gastrointestinales en los cuyes, pero pocos estudios han informado con qué frecuencia ocurren estas infecciones o qué tipos de infecciones bacterianas se observan con más frecuencia (Roberts-Steel et al., 2019).

La linfadenitis cervical (bultos) constituye una enfermedad que comúnmente afecta a los cuyes (O'Rourke, 2020) y provoca pérdidas económicas importantes ya que disminuye su producción y provoca muertes masivas; aunado a ello se suma la falta de conocimiento y la ausencia de un tratamiento específico. Desde un punto de vista clínico, puede presentarse de forma aguda y crónica; en principio el tejido linfoide de la laringe es el primer órgano infectado por las bacterias, pero, a medida que avanza la enfermedad, los abscesos pueden localizarse en otras zonas del cuerpo del animal. Estos abscesos observables de manera macroscópica en la región inferior del cuello son causados por un aumento desproporcionado del tamaño de los linfonódulos cervicales (Flores, 2018), el cual es provocado por organismos bacterianos como *Streptococcus zooepidemicus*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Bordetella* y *Salmonellae* (*S. linat*) que acceden a los ganglios linfáticos cervicales a través de la mucosa oral erosionada (Barrios-Arpi y Morales-Cauti, 2020). El grupo de estreptococos puede causar diferentes enfermedades clínicas en humanos, incluyendo septicemia, faringitis, endocarditis, neumonía y meningitis (Corning, Murphy y Fox, 1991). *Streptococcus equi* subsp. *Zooepidemicus*, tradicionalmente clasificado como *Streptococcus pyogenes* grupo C (Mans, 2013), es un patógeno zoonótico conocido (Gruszynski et al., 2015). En los seres humanos, se asocia con brotes de nefritis y otras infecciones (meningitis, endocarditis y neumonía) que a menudo se remontan al consumo de productos lácteos contaminados (Mans, 2013). Por otro lado, infecciones por *Staphylococcus aureus* y *Streptobacillus* provocan el agrandamiento de los linfonódulos cervicales lo que produce sinusitis, otitis y en las vías respiratorias, bronquitis y neumonía intersticial. Este tipo de patologías afectan a cuyes de todas las edades y favorecen la aparición de epidemias de alto grado caracterizadas por su rápida propagación, lo que afecta tanto a pequeños como a grandes productores (Manrique, 2021).

La sensibilidad al estrés en los cuyes los hace vulnerables a problemas de salud y factores nutricionales (Mayer, 2007). Las presentaciones comunes que se pueden llegar a observar en los cuyes enfermos que estén padeciendo infecciones bacterianas son disminución de la actividad física y la interacción (Adrien et al., 2001), llegando a la presentación de letargo y anorexia (DeCubellis, 2016). Asimismo, cambios en la interacción, camas, alojamiento, higiene y sobre todo la

parte nutricional son factores importantes en relación a la inducción del estrés y con ello la transmisión de infecciones bacterianas en cuyes (Brown y Donnelly, 2004). Por otro lado, los cuyes pueden presentar un tratamiento complejo en las distintas enfermedades, debido a las infecciones latentes y presentarse diagnósticos diferenciales complejos que puedan dificultar un tratamiento adecuado en infecciones bacterianas (Langan et al., 2000). Por último, reportes hallados por productores cuyeros en el Perú, señalan que la linfadenitis, una vez establecida en la granja tiene una elevada capacidad de diseminación, pudiendo llegar a infectar al 100% de cuyes sin posibilidad de implementar tratamientos efectivos (Manrique, 2021).

La región de Cajamarca es reconocida por ser una zona notable en la producción de cuyes, considerada como la primera región a nivel del Perú, con más de dos millones de ejemplares (INEI, 2012). No obstante, a pesar de ello no se dispone de mucha información sobre factores relacionados a la sanidad productiva por lo que se requiere de una estandarización de protocolos de bioseguridad para contrarrestar problemas como la linfadenitis, y para ello es importante conocer a los agentes bacterianos que lo causan con el fin de prevenir. En otros aspectos, una descripción completa de los patógenos permitirá contrarrestar o evitar problemas de resistencia antibiótica lo cual es de importancia pública a nivel mundial (Canut-Blasco *et al.*, 2016). La linfadenitis en los cuyes tiene una gran importancia clínica, sin embargo su etiología aún no es clara y los tratamientos terapéuticos continúan siendo insuficientes dentro de la Medicina Veterinaria (Carhuapoma–Delacruz et al., 2022).

El presente estudio tuvo como objetivo principal aislar y caracterizar microbiológica y molecularmente a los agentes bacterianos más frecuentes causantes de linfadenitis cervical en cuyes de tres provincias pertenecientes a la zona sur de la región de Cajamarca.

Objetivos

Objetivo general

Aislar y caracterizar los agentes bacterianos de linfadenitis cervical en Cuyes (*Cavia porcellus*).

Objetivos específicos

Identificar microbiológicamente los agentes bacterianos de linfadenitis cervical en cuyes (*Cavia porcellus*).

Caracterizar molecularmente los agentes bacterianos de linfadenitis cervical en cuyes (*Cavia porcellus*).

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de investigación

Se determinó el efecto antimicrobiano del aceite esencial del kion (*Zingiber officinale*) en cepas de *Streptococcus* causantes de linfadenitis en cuyes (*Cavia porcellus*). Es uno de los estudios más recientes en el cual se menciona que en su proceso de investigación obtuvieron muestras provenientes de abscesos de animales positivos a linfadenitis cervical. Identificaron un total de 20 cepas patógenas, las cuales corresponden a 16 cepas de *Streptococcus pyogenes* y 4 cepas de *Streptococcus equi spp zooepidemicus*. Posteriormente, aplicaron 4 tratamientos por triplicado a cada cepa aislada, que correspondían al 65 %, 45 %, 25 % y 5 % del aceite esencial de kion. Los datos fueron analizados con ayuda del software estadístico SPSS v.25 mediante el análisis para varias muestras relacionadas de Friedman con un valor crítico de (p) 0.05 y la prueba de Bonferroni utilizada para comparar la media de los grupos y establecer su diferencia significativa (Krklec, 2021).

Por otro lado, Angulo-Tisoc, Siuce y Jara (2021) en su estudio de susceptibilidad de antibióticos de patógenos bacterianos en cuyes con linfadenitis cervical de crianza familiar-comercial en la provincia de Canchis-Cusco. Se procesaron 64 muestras realizándose un antibiograma mediante disco difusión en gel, se lograron identificar *Streptococcus* sp beta-hemolítico (91,8 %, 56/61), *Staphylococcus* sp (45,9 %, 28/61) y *Klebsiella* sp (21,3 %, 13/61), siendo mayor la frecuente en cuyes adultos.

En una investigación realizada en la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco sobre sensibilidad de antibióticos del agente etiológico de linfadenitis en cuyes del centro de producción de reproductores Huayllapampa-San Jerónimo- Cusco, se utilizaron 34 cuyes sin tener en cuenta diferencias de sexos y edad (27 hembras y 7 machos). Se lograron identificar animales sospechosos de padecer linfadenitis mediante examen físico (palpación), ganglios linfáticos de todo

el cuerpo, logrando determinar que no solo un agente etiológico está involucrado como agente causal de linfadenitis en cuyes (*Streptococcus* sp., *Staphylococcus* sp. y *Corynebacterium* sp) (Mescoco, 2019).

De la misma manera, se identificó al agente etiológico de la linfadenitis en cuyes (*Cavia porcellus*) a través de secuenciación molecular del gen 16S rRNA. Para ello, fueron aisladas 4 cepas bacterianas de los abscesos cervicales de cuyes. La secuencia de nucleótidos de las 4 cepas fue comparada mediante la herramienta BLAST, utilizando la base de datos del Gen Bank, y se observó que ninguna tiene una identidad del 100 %. Por lo que, las 4 secuencias bacterianas provenientes de las cepas aisladas no corresponden a ningunas de las registradas en el Gen Bank. Asimismo, se encontró que las cepas tienen porcentajes de identidad del 95 % y 99 %, de las cuales tres cepas mostraron alta similitud a *Streptococcus equi*, y una cepa con *Staphylococcus warneri* (Quispe, 2019).

Otro trabajo en linfadenitis cervical en cuyes (*Cavia porcellus*), se realizó a través de técnicas microbiológicas en el Centro Experimental Pampa del Arco de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga en Ayacucho. Se emplearon 20 cuyes distribuidos en cuatro tratamientos con cinco repeticiones cada uno, teniendo en cuenta la edad y sexo de los animales. Se identificó a 4 agentes causales identificados como *Streptococcus* sp (100 %), *Staphylococcus* sp (90 %), *Salmonella* sp (20 %) y *Corynebacterium* sp (20 %) (Flores, 2018). Otros estudios relacionados se realizaron en la Asociación COPRA – Majes, Arequipa- 2013, donde se identificó a *Streptococcus zooepidermicus* (90,5 %), *Salmonella thyphimurium* (2 %), *Salmonella enteritidis* (2 %), *Staphylococcus aureus* (2 %) y *Micrococcus* (2 %) como agentes etiológicos de la Linfadenitis. Las enfermedades que condicionan el desarrollo de la cría de cuyes se consideran a la linfadenitis (19,61 %) y *Salmonella thyphimurium* (3,94 %) del total de patologías asociadas a los sistemas de producción (Concha, 2014).

Por otro lado, se identificó mediante diagnóstico clínico linfadenitis en cinco cuyes (*Cavia porcellus*) de un plantel cavícola de la provincia de Imbabura, que se confirmó con análisis histopatológico y estudio bacteriológico. Con este último, se identificó a *Staphylococcus* spp. en muestras de ganglios linfáticos. Se concluyó que, la enfermedad fue compatible con linfadenitis por *Staphylococcus* spp., que mediante análisis in vitro se confirmó que es sensible a todos los antimicrobianos de uso veterinario frecuentemente usados (Estupiñán et al., 2018).

En otra investigación se evaluó dióxido de cloro al 28 % para el control de linfadenitis, en cuyes. Se emplearon 27 animales, los cuales se distribuyeron en tres tratamientos mediante un diseño completamente aleatorizado. Los resultados de laboratorio evidenciaron actividad sobre las unidades formadoras de colonia (UFC). Además, se identificó como agente de mayor prevalencia a *Staphylococcus aureus*, seguido de *Streptobacillus moniliformis* (Jiménez, 2016).

En otro estudio identificaron los agentes bacterianos causantes de la linfadenitis cervical en cuyes (*Cavia porcellus*) y determinaron la sensibilidad antimicrobiana en la microcuenca del río Mariño, distrito de Abancay, provincia de Abancay, región Apurímac. En dicho trabajo se realizó cultivos microbiológicos para ello se recolectaron un total de 30 muestras provenientes de animales que presentaban signos patognomónicos de linfadenitis cervical. Los cultivos microbiológicos se realizaron en placas que contenían agar MacConkey, agar sangre y agar nutritivo. Posteriormente, se realizaron antibiogramas a los aislados bacterianos para lo que se utilizó el método Kirby-Bauer en agar Müller Hinton. Se identificó a *Streptococcus* spp (100 %), *Staphylococcus* spp (16,6 %) y *Salmonella* spp (10 %) como agentes bacterianos de linfadenitis cervical en las muestras analizadas. Según el sexo del animal, se identificó que *Streptococcus* spp estuvo presente en un 50 % en machos y 50 % en hembras, *Staphylococcus* spp en un 60 % de los machos y un 50 % de las hembras, y *Salmonella* spp con un 33,3% en machos y 66,7% en hembras. Con respecto a la edad del animal se halló que *Streptococcus* spp tuvo una frecuencia del 50% en la etapa de recría y 50 % en adultos, *Staphylococcus* spp (60 % recría 40 % adultos) y *Salmonella* spp (33,3 % recría y 66,7 % adultos) (Teves, 2022).

Asimismo, en otro estudio identificaron la etiología y la susceptibilidad antibiótica de bacterias causales de Linfadenitis cervical (LC) en cuyes reproductoras clínicamente enfermas. El estudio incluyó a 50 cuyes de raza Perú, que presentaban abscesos externos (25 cuyes) y abscesos internos (25 cuyes). De cada grupo, se obtuvieron muestras independientes mediante punción/ aspiración de los ganglios linfáticos, que se cultivaron en medios ABS, TSA, BHI, suplementados con sangre de alpaca y enriquecidos con caldo FTM. Los cultivos se incubaron a 37°C por 48 horas para luego ser identificados por caracterización morfológica y microscópica, además mediante la prueba de CAMP y pruebas bioquímicas. Para la evaluación de la sensibilidad microbiana se utilizó el método

Kirby-Bauer y se empleó seis antibióticos de uso común en la medicina veterinaria. Los resultados mostraron una elevada frecuencia de *Streptobacillus moniliformis* (100 y 96 %), *Streptococcus pyogenes* (96 y 100 %) y *Streptococcus zooepidemicus* (96 y 92 %). Además, se halló multiresistencia antibiótica a más de tres antibióticos (ampicilina, oxitetraciclina, amoxicilina, cloranfenicol), con respuesta de sensibilidad a penicilina (26-29 %) y gentamicina (23-26 %) como posible éxito terapéutico. Los abscesos subcutáneos externos e internos con LC en cuyes evidenciaron predominancia de bacteria Gram negativas *S. moniliformis*, *S. pyogenes* y *S. zooepidemicus* multidrogo resistente con elevadas frecuencias (Carhuapoma–Delacruz et al., 2022).

Se determinó el agente etiológico de Linfadenitis en abscesos subcutáneos provenientes de cuyes en el distrito de Majes, provincia de Caylloma, departamento de Arequipa. Se obtuvieron 50 muestras aleatorias provenientes de animales en la etapa de recría, las cuales fueron analizadas mediante ensayos microbiológicos que incluyeron aislamientos en agar sangre y MacConkey, identificación microscópica mediante tinción Gram y pruebas bioquímicas. Los resultados mostraron que *Streptococcus zooepidemicus* (90,5 %) fue el principal agente etiológico identificado seguido de *Salmonella thyphimurium* (2 %), *Salmonella enteritidis* (2 %), *Staphylococcus aureus* (2 %), *Micrococcus* (2 %). (Concha, 2014).

2.2. Bases teóricas

2.2.1. El cuy o cobayo

El cuy (*Cavia porcellus*) es una especie originaria de los Andes de Sudamérica, específicamente de las zonas de Bolivia, Colombia, Ecuador y Perú. Este es conocido por ser un producto alimenticio con alto valor nutritivo (Quispe, 2019) y bajo costo de producción, lo que contribuye a la seguridad económica y alimentaria de la población de zonas rurales y con bajos recursos (INIA, 2005). Entre algunas ventajas de su crianza se puede considerar, su adaptación a diferentes condiciones ambientales, son animales altamente prolíferos, su alimentación se basa principalmente en la herbívora por lo que puede consumir desde cualquier planta herbácea hasta desperdicios de cocina y/o subproductos industriales, por otro lado, su crianza no requiere de una infraestructura bien diseñada y el estiércol generado se puede utilizar como abono orgánico (Vivas, 2009). Los cuyes representan un lugar importante en el ámbito de la investigación (Pritt, 2012), ha contribuido a estudios de anafilaxia, asma, inmunología, enfermedades infecciosas y nutricionales y otología, entre otros (Shomer, Holcombe y Harkness, 2015). Los cuyes es sinónimo de experimentación científica (Padilla-Carlin, McMurray y Hickey, 2008) y son roedores dentro del suborden hystricomorpha, mientras que los subórdenes sciuromorpha y myomorpha contienen las otras especies de roedores. Este lugar especial en la investigación implica que los cuyes son uno de los animales de laboratorio más utilizados en la investigación. Después de un pico de uso en la década de 1960 con un estimado de 2,5 millones de cuyes por año, el número utilizado por año en la investigación biomédica ha disminuido constantemente (Pritt, 2012), los cuyes fueron domesticados hace unos 3000 a 6000 años, se encuentran adaptados a las condiciones de vivienda creadas por el hombre (Sachser, Künzl y Kaiser, 2007). Así mismo, gracias a que es capaz de adaptarse a diferentes condiciones climáticas, el cuy puede estar presente en regiones como la costa o el llano hasta zonas que alcanzan alturas de hasta 4 500 metros sobre el nivel del mar como los andes, por lo que, se le puede encontrar en zonas ya sea frías o cálidas (Quispe, 2019).

Asimismo, es un recurso genético importante sobre todo para las comunidades alto andinas del Perú, ya que sirve como sustento económico y alimentario (Valladares, 2019). La crianza de cuyes en América del Sur es una actividad económica importante en comparación con su crianza como mascotas en otros países (Jara et al., 2023).

2.2.2. Ganglios linfáticos

Son estructuras distribuidas por todo el organismo, encapsulados y de forma ovoide y que además de la vasculatura sanguínea normal están conectados a la red de vasos linfáticos, cuya función principal es filtrar linfa y facilitar la activación de la respuesta inmune adaptativa. Confirmados por una corteza rica en linfocitos B, una paracorteza compuesta predominantemente por linfocitos T y una médula con macrófago y células plasmáticas, permitiendo actuar como centros de proliferación, diferenciación y vigilancia inmunológica frente a antígenos. De esta manera los antígenos (Ags) entran en contacto con las células de sistema inmunitario que son quienes inician la respuesta inmunitaria (Manrique, 2021).

2.2.3. Sistema linfático

El sistema linfático comprende una red de sacos o espacios terminales que integra órganos, vasos y tejidos, lo cuales confluyen en canales colectores de entrada. Se caracterizan por presentar una presión de -0,2 y 8,0 mm Hg en los tejidos y en el espacio intersticial. Se encargan del drenaje del filtrado capilar desde el espacio intersticial mediante los mecanismos de Starling o a través del propio sistema linfático, por lo que desempeña una función importante en el equilibrio de líquidos y la respuesta inmunitaria (Manrique, 2021).

2.2.4. Tejido linfoide

El linfonódulo presenta una cápsula de tejido conectivo cuya función es de soporte y de la cual se originan trabéculas hacia el interior, que facilitan el paso de los vasos aferentes y eferentes. En esta región existen nervios

sensitivos y motores, que explican por qué su rápido aumento en tamaño ocasiona dolor. En su corteza existe una gran concentración de linfocitos B, organizados en folículos linfoides primarios y en folículos secundarios. En cuanto a la medula del linfonódulo está constituida por fibras reticulares de las que derivan trabéculas que forman los cordones medulares, los cuales convergen en el hilio. En esta zona también existen células libres, entre ellas linfocitos B y T, células plasmáticas y macrófagos, rodeadas por senos y capilares linfáticos (Manrique, 2021).

2.2.5. Linfadenitis cervical

La linfadenitis es una enfermedad producida por microorganismos bacterianos y se presenta como una inflamación de los ganglios linfáticos cervicales, lo que causa la formación de abscesos debajo de la cabeza o el cuello del infectado, además puede producir infecciones en la nariz, oídos y en las vías respiratorias, lo que provoca bronquitis y neumonía (FONCODES, 2014; Barrial y Huamán, 2020). Dentro de los animales que padecen esta afección se encuentran los cobayos o cuyes, los cuales se infectan a través de los ganglios linfáticos cervicales mediante la mucosa oral desgastada (Barrios-Arpi y Morales-Cauti, 2020). Entre los microorganismos involucrados en esta afección se encuentran principalmente *Streptococcus zooepidemicus* y *S. moniliformis* (O'Rourke, 2020). En raras ocasiones, puede ocurrir una forma sistémica aguda en cuyes más jóvenes (Evans, 2013).

2.2.5.1. Epidemiología

A nivel mundial, se han reportado infecciones causadas por microorganismos del género *Streptococcus* en diversas especies animales, observándose en varios casos una marcada especificidad por hospedero. Estas afecciones se han reportado en caballos, cerdos, rumiantes, primates, perros, gatos, ratones y cuyes, siendo estas dos últimas las especies más sensibles (Abbott et al., 2010).

Sexo

Se ha demostrado que las cuyes hembras son más susceptibles a las enfermedades que los machos (Mans, 2013).

Factores de riesgo

Desde el enfoque epidemiológico, su presentación depende de la interacción entre el agente, hospedador y el ambiente; en el hospedador los factores de riesgo incluyen el estrés fisiológico por gestación o destete, inmunosupresión y deficiencia de vitamina C, además de la presencia de lesiones en mucosas orales o en la piel que son puerta de entrada para los diferentes microorganismos (Mans, 2013).

Contagio y zoonosis

Linfadenitis cervical, causado principalmente por *Streptococcus zooepidemicus* es una bacteria beta-hemolítico encapsulado Gram positivo y tradicionalmente se clasifica como estreptococo del grupo C, se transmite mediante contacto directo a secreciones purulentas o mediante fómites, siendo las microlesiones en la mucosa oral y cutánea las principales puertas de entrada. *S. zooepidemicus* posee importancia zoonótica, ocasionando en seres humanos infecciones como bacteriemias, endocarditis y neumonías, principalmente reportado en personas inmunocomprometidas o expuestas ocupacionalmente al contacto con animales infectados (Mans, 2013). En tan sentido, aunque los casos de transmisión desde cuyes hacia humanos son limitados, linfadenitis en cuyes debe considerarse un riesgo zoonótico emergente, requiriendo medidas de bioseguridad en la crianza y manipulación de los cuyes.

2.2.5.2. Patogenia

La opinión tradicional sobre la patogenia de la linfadenitis cervical en cobayos es que el estreptococo del grupo C de Lancefield accede a los ganglios linfáticos cervicales mediante una mucosa oral erosionada. En este estudio, se establece que la inoculación de mucosas nasales y conjuntivales intactas con *Streptococcus zooepidemicus* (Lancefield Grupo

C) también puede producir la enfermedad. Se dividieron cuyes (*Cavia porcellus*) recién destetados (SPF) en dos grupos experimentales de 10 y dos grupos de control de cuatro cada uno. Los conejillos de indias de cada grupo se alojaron individualmente en cubículos separados. El grupo I se inoculó con 0,05 mL de cultivo que contenía $2,8 \times 10^7$ CFU/mL de *S. zooepidemicus* en la conjuntiva del ojo izquierdo. El grupo II recibió un inóculo similar en las fosas nasales izquierdas. Los grupos de control recibieron 0,05 mL de caldo TSB en los mismos sitios. Cinco de diez cobayos en el Grupo II murieron de cuatro a nueve días después de la inoculación. Los conejillos de indias supervivientes fueron sacrificados a intervalos entre los días 4-13 después de la inoculación. Todos los cobayos fueron sometidos a necropsia, cultivados y examinados en busca de evidencia de infección. *S. zooepidemicus* se recuperó de 30/50 y 39/46 sitios cultivados de los Grupos I y II, respectivamente. Se encontró linfadenitis en los ganglios linfáticos cervicales de 8/10 cobayos del Grupo I y 10/10 del Grupo II. La mucosa conjuntival y nasal, por lo tanto, representan sitios potenciales de entrada que resultan en linfadenitis cervical en cobayos. *S. zooepidemicus* se recuperó de 30/50 y 39/46 sitios cultivados de los Grupos I y II, respectivamente. Se encontró linfadenitis en los ganglios linfáticos cervicales de 8/10 cobayos del Grupo I y 10/10 del Grupo II (Murphy et al., 1991).

2.2.5.3. Transmisión

Los agentes etiológicos se transmiten a través de lesiones cutáneas, mordeduras, vía aérea (aerosol) o genital, así como por laceraciones en la mucosa oral o conjuntiva. La ingesta de alimentos que tienen un alto contenido de fibra aumenta la susceptibilidad pues favorece la aparición de lesiones en la cavidad bucal. Tras el ingreso del organismo, los microorganismos infectan inicialmente los nódulos linfáticos locales, generando frecuentemente un aumento unilateral o bilateral en el ángulo de la zona cervical. Asimismo, los agentes pueden permanecer de forma latente en la conjuntiva y en la cavidad nasal del hospedero (Manning, Wagner y Harkness, 1984).

2.2.5.4. Signos clínicos

La principal manifestación clínica de la linfadenitis es la presencia de uno o varios “bultos” debajo de la mandíbula y/o a los laterales de la tráquea cervical producidos principalmente por el agrandamiento de los ganglios linfáticos. Los animales que resultan infectados pueden no presentar otros signos de enfermedad o se puede presentar en algunos casos fiebre, pérdida de apetito y con ello la pérdida de peso, incluso y de manera ocasional se puede presentar infección respiratoria y septicemia con alta mortalidad, además, también se pueden ver afectados ganglios linfáticos de otras partes del cuerpo (Manning, Wagner y Harkness, 1984; Barrial y Huamán, 2020). Otro de los signos que nos puede llevar a el diagnóstico de esta enfermedad de forma tardía es la presencia de materia o pus debido a la erupción de los bultos, lo cual se da cuando la infección se encuentra muy avanzada (Flores, 2018).

2.2.5.5. Diagnóstico morfológico

Mediante examen clínico se pueden observar en el ganglio linfático cervical: presencia de aumento de volumen en la región cervical, producto de abscesos en ganglios linfáticos mandibulares y cervicales superficiales, los abscesos suelen ser delimitados, encapsulados y de consistencia firme con contenido purulento de aspecto cremoso (Teves, 2022).

2.2.5.6. Resultados del examen físico

Forma de localización

Los abscesos pueden ser bilateral o unilateral, y en infecciones crónicas se observan adherencias a tejidos circundantes, linfadenopatía, que puede ser doloroso a la palpación, pueden presentar tortícolis o nistagmo si hay otitis (Evans, 2013).

Forma sistémica aguda

Disnea, Taquipnea, Cianosis, Estertores o ruidos cardíacos amortiguados, Colapso, taquicardia, mala periferia, pulsos generales si se encuentra en shock séptico (Evans, 2013).

2.2.5.7. Diagnóstico diferencial

En la mayoría de los casos los abscesos son el signo principal con el cual los productores pueden diagnosticar esta enfermedad, también se pueden presentar signos como dificultad respiratoria u obstrucción esofágica debido al aumento en el tamaño de los ganglios. No obstante; se puede realizar un diagnóstico mediante el cultivo del material del absceso en medios de cultivo como agar sangre, en el cual se revelaría el principal agente causal con colonias β -hemolíticas de cocos gram-positivos (Manning, Wagner y Harkness, 1984).

2.2.6. Agentes causales de Linfadenitis

2.2.6.1. *Streptococcus* sp.

El género de bacterias conocido como *Streptococcus*, se caracterizan por ser Gram positivas y de morfología esférica que forman cadenas o pares. Salvo algunas especies, la mayoría suelen ser inmóviles y no presentan cápsula. Se ha descrito la presencia de fimbrias en especies como *S. pyogenes* y *S. sanguis*, mientras que otras como *S. equi* y *S. suis*, presentan capsula. Este género no produce catalasa, una enzima capaz de catalizar al peróxido de hidrogeno, lo que las diferencia fácilmente del género *Staphylococcus* (Vadillo, 2002). Entre los estreptococos beta-hemolíticos existe una diferencia particular referida a los antígenos de carbohidratos de la pared celular en grupos de Lancefield. De los causantes de enfermedades en cuyes se sabe que son del grupo A (*S. pyogenes*) y del grupo C (*S. equi*, *S. equisimilis*) (González-Lama et al., 2000).

Sus principales factores de virulencia incluyen a enzimas y exotoxinas como las estreptolisinas que tienen actividad hemolítica, hialuronidasas, ADNasas, estreptoquinasas y proteasas. Sin embargo, la función específica y la importancia de alguno de estos factores aún no han sido ampliamente estudiados. Las cápsulas de polisacárido son consideradas los principales factores virulentos de *S. pyogenes*, *S. pneumoniae* y *S. equi*, y que además les confieren propiedades antifagocíticas. De igual manera, la proteína M presente en la pared celular de *S. pyogenes*, *S. equi* y *S. porcinus* también tiene actividad antifagocítica. Por lo que, en ausencia de estos mecanismos de evasión, las bacterias son rápidamente destruidas por los fagocitos del hospedero. *Streptococcus pneumoniae* puede provocar neumonía grave (Wagner et al., 1976).

2.2.6.1.1. *Streptococcus equi*. Sbsp. *Zooepidemicus*

Este agente pertenece al grupo C de los *Streptococcus*, es un organismo que produce hemólisis β , encapsulado y fermenta el sorbitol (Brabb et al., 2012b) y tiene una cápsula antifagocítica, además produce varias exotoxinas, y es una subespecie que sobrevive más tiempo de lo normal fuera del huésped. Es patógeno que afecta a animales y humanos, y está asociado a la inflamación de los ganglios linfáticos cervicales produciendo abscesos con pus de color blanco amarillento. Además, se considera el principal agente causal de la linfadenopatía en cuyes (Barrios-Arpi y Morales-Cauti, 2020). Los conejillos de Indias pueden portar *S. equi subsp. zooepidemicus* asintóticamente en la nasofaringe y la conjuntiva (Percy y Barthold, 2007) y se asocia al desarrollo de linfadenitis crónica (Wagner et al., 1976).

Este microorganismo se transporta mediante la nasofaringe y la conjuntiva, al parecer su ruta de invasión sería mediante las abrasiones en la mucosa oral, sin embargo, también se puede hablar como otras posibles vías de entrada

a su inhalación, las abrasiones cutáneas y la invasión del tracto genital durante el parto de las hembras. Una vez el organismo haya iniciado la invasión del tejido subyacente de la mucosa oral se piensa que es transportado a los ganglios linfáticos en donde prosperan los organismos piógenos produciendo un proceso de inflamación supurativa crónica (Barthold, Griffey y Percy, 2016). Dentro de otro de los signos que puede causar a infección por parte de esta bacteria se menciona a secreciones nasales y oculares, disnea, hematuria, glándulas mamarias inflamadas, abortos y muerte inesperadas (Corning, Murphy y Fox, 1991; Shomer, Holcombe y Harkness, 2015).

Manifestaciones clínicas: La enfermedad clínica asociada a *S. equi subsp. zooepidemicus* se conoce coloquialmente como «bultos», debido a la naturaleza piógena de la bacteria y a su propensión a desplazarse a los ganglios linfáticos y replicarse en ellos (Percy y Barthold, 2007).

2.2.6.1.2. *Streptococcus piogenes*

Considerado también como uno de los agentes responsables de la Linfadenitis, este microorganismo β -hemolítico que pertenece al grupo A de lancefield, considerado un agente bacteriano que afecta animales y humanos, es normal encontrarlo alrededor de la mucosa oral o en las vías respiratorias altas. Sin embargo, al penetrar los ganglios linfáticos pueden causar abscesos grandes en la región del cuello. Además; estos organismos se encuentran asociados, septicemias y otras condiciones supurativas (Saldías et al., 2008).

2.2.3. Identificación morfológica

La identificación microbiológica de las bacterias se realiza mediante cultivos en medios específicos y con los nutrientes necesarios para su desarrollo, a continuación, se mencionan algunos:

2.2.3.1. Agar Sangre

Medio de cultivo suplementado con sangre ovina al 5 %, también puede usarse sangre humana, permite el desarrollo de bacterias que son nutricionalmente exigentes, además permite una clara visión de las reacciones de hemólisis (factor de virulencia). Esta reacción se presenta en tres formas: hemólisis alfa, es decir la lisis parcial de los glóbulos rojos lo cual se observa por la presencia de un halo de color verde alrededor de las colonias; hemólisis beta, caracterizado por la lisis total de los glóbulos rojos, observándose un halo claro y brillante alrededor de las colonias; y por último la hemólisis gamma, en la cual no se aprecia una lisis de los glóbulos rojos, es decir; el medio de cultivo permanece igual, sin cambios (Concha, 2014).

2.2.3.2. Agar Salmonella-Shiguelia

Medio de cultivo usado para el aislamiento de la bacteria *Salmonella* sp. y de algunas especies de *Shigella* spp. Compuesto por pluripeptona y el extracto de carne, sales biliares y el verde brillante, estos dos últimos inhiben el desarrollo de la mayoría de bacterias Gram positivas, coliforme y *Proteus* spp. Además, contiene latosa y tiosulfato de sodio que permiten observar fermentación lactosa y formación de SH₂, indicador de la formación de sulfuro de hierro el cual se evidencia cuando las colonias presentan un centro negro. Como indicador de pH contiene rojo neutro. Los microorganismos que logran fermentar la lactosa, acidifican el medio haciendo que este se cambie al color rojo. En el caso de *Salmonella* sp y *Shigella* spp, los cuales no son fermentadores de lactosa crecen en colonias transparentes (Bonnet et al., 2019).

2.2.3.3. Agar MacConkey

Medio de cultivo utilizado para el aislamiento de bacilos Gram negativos aerobios y anaerobios facultativos, pueden desarrollarse en

este medio todas las especies de la familia *Enterobacteriaceae*. Dentro de sus componentes tiene se puede mencionar a la peptona, la lactosa, sale biliares y el cristal violeta. Su fundamente se basa en la fermentación de la lactosa, lo cual produce la disminución de pH alrededor de las colonias, produciendo un viraje del indicador de pH, el rojo de metilo, así como la precipitación de las sales biliares. Las bacterias que no fermentan lactosa crecen incoloras (Hasan et al., 2019).

2.2.3.4. Agar Staphylococcus

El agar Staphylococcus es usado para el aislamiento es estafilococos de muestras clínicas y no clínicas y se basa en la fermentación de manitol, formación de pigmentos y actividad gelatinasa. Dentro de sus componentes esta la peptona de caseína, la cual proporciona nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. En el caso de la obtención de estafilococos patógenos y coagulasa positivos resisten la alta concentración de NaCl y sus colonias son color dorado, por último, para la observación de la fermentación de manito y la producción de ácido, se agrega unas gotas de azul de bromotimol a una placa y se busca la producción de un halo amarillo alrededor de las colonias (Hasan et al., 2019).

2.2.4. Técnicas moleculares

2.2.4.1. Extracción del ADN

La extracción de ADN es una de las técnicas básicas usadas en biología molecular, que tiene como fin la obtención de ADN en cantidad y calidad necesaria. Este procedimiento incluye el uso de métodos físicos (calor, frío, golpes, entre otros) y métodos químicos (detergentes, entre otros), con el fin de romper la membrana celular del organismo (lisis celular), eliminar proteínas y otros componentes celulares y solubilizar el ADN. Para ello se pueden utilizar desde métodos in-house (método de fenol-cloroformo,

método de Shock térmico), hasta el uso de kits comerciales. Una vez obtenido el producto, este se evalúa mediante espectrofotometría o usando electroforesis en gel. En el primer caso, la concentración de ADN se mide según la cantidad de luz absorbida por longitudes de onda específicas, para el caso de los ácidos nucleicos esta se encuentra a ~260 nm, una relación A_{260}/A_{280} debe ser aproximadamente 1.8, una relación inferior indicaría contaminación por proteínas (Gupta, 2019).

2.2.4.2. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés *Polymerase Chain Reaction*) es una técnica importante dentro de la biología molecular, útil para la amplificación de millones de copias de un fragmento específico de ADN. Esta técnica se fundamenta en los mecanismos de replicación celular, donde intervienen una serie de proteínas que permiten la síntesis de nuevas hebras de ADN a partir de una cadena molde (Serrato *et al.*, 2014).

En esta técnica se da un ciclo integrado por tres fases: primero ocurre la desnaturalización del ADN molde proceso que se da por la elevación de la temperatura. Luego de la separación de las dos hebras del ADN ocurre la unión de los cebadores. Posteriormente, ocurre la fase de alineamiento donde ocurre la hibridación de cebadores, favorecida por la disminución de la temperatura se unen los cebadores a las zonas complementarias del ADN desnaturalizado. Cada cebador es un oligonucleótido monocatenario diseñado para reconocer secuencias ubicadas en los extremos de la región que se desea amplificar. Por último, en la fase de elongación, la reacción se mantiene a una temperatura óptima en presencia de un excedente de desoxinucleótidos trifosfato (dNTPs), lo que permite que la ADN polimerasa sintetice nuevas cadenas a partir de los cebadores previamente unidos. En los primeros ciclos se sintetizan productos de mayor longitud; sin embargo, en ciclos

sucesivos, la elongación se restringe a fragmentos limitados por la longitud del molde y por ambos cebadores. Esto aumenta progresivamente la proporción del amplicón específico en el producto final (Valladares, 2019).

2.2.4.3. Gen 16S ARNr

El ARN ribosómico 16s corresponde a la subunidad pequeña del ribosoma cuya función principal es traducción de la información genética contenida en el ARNm a proteínas funcionales. El ARNr 16S es una molécula que tiene regiones con un alto grado de conservación, lo que lo hace especialmente útil como cronómetro evolutivo. En ese sentido el ARNr 16S es de gran utilidad para la identificación bacteriana o la asignación de género y especie (Bou et al., 2011). De acuerdo con la Sociedad Americana de Microbiología (ASM) se recomienda utilizar la nomenclatura ARNr 16S para referirse a esta molécula (Olmos et al., 2010). El análisis de la secuencia del ARNr 16S es una herramienta ampliamente utilizada para el análisis de la diversidad bacteriana en muestras clínicas y ambientales, y ha sido aplicado en un amplio número de especies. Las secuencias disponibles en bases de datos como GenBank tienen longitudes variables, aunque usualmente se analizan fragmentos comprendidos entre 500 y 1 500 pares de bases (Olmos et al., 2010).

2.2.4.4. PCR multiplex

Este sistema de PCR permite amplificar de manera simultánea varios fragmentos de ADN en una sola reacción, se usan con normalidad para examinar la genética de poblaciones, asignación de parentesco, interacciones tróficas, identificación molecular de especies, la evaluación comunitaria, así como para estudios forenses y de seguridad alimentaria (Sint, Raso y Traugott, 2012).

2.2.4.5. Electroforesis en gel de agarosa

Es una técnica muy utilizada para la separación y análisis de ácidos nucleicos. Debido a que las moléculas de ADN presentan una carga eléctrica negativa, migran desde el electrodo negativo hacia el positivo cuando se someten a un campo eléctrico. En este caso, la matriz del gel actúa como un tamiz que limita el desplazamiento aleatorio de las moléculas. Por lo que, aquellas moléculas que tienen un tamaño similar migran juntas como una banda, cuyo ancho corresponde al ancho del carril de carga. Las moléculas de menor tamaño se desplazan con mayor rapidez por lo que, las moléculas de diferentes longitudes migran como bandas distintas (Valladares, 2019).

CAPÍTULO III

DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS

3.1. Localización

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en tres provincias de la zona sur de la región Cajamarca (Cajabamba, San Marcos y Cajamarca), la parte de identificación microbiológica y bioquímica se desarrolló en el Laboratorio de Biotecnología en Sanidad Animal de la Estación Experimental Agraria Baños del Inca- Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) y en relación a la secuenciación, fueron enviadas 28 muestras a Macrogen (Corea del Sur) para sus análisis correspondientes.

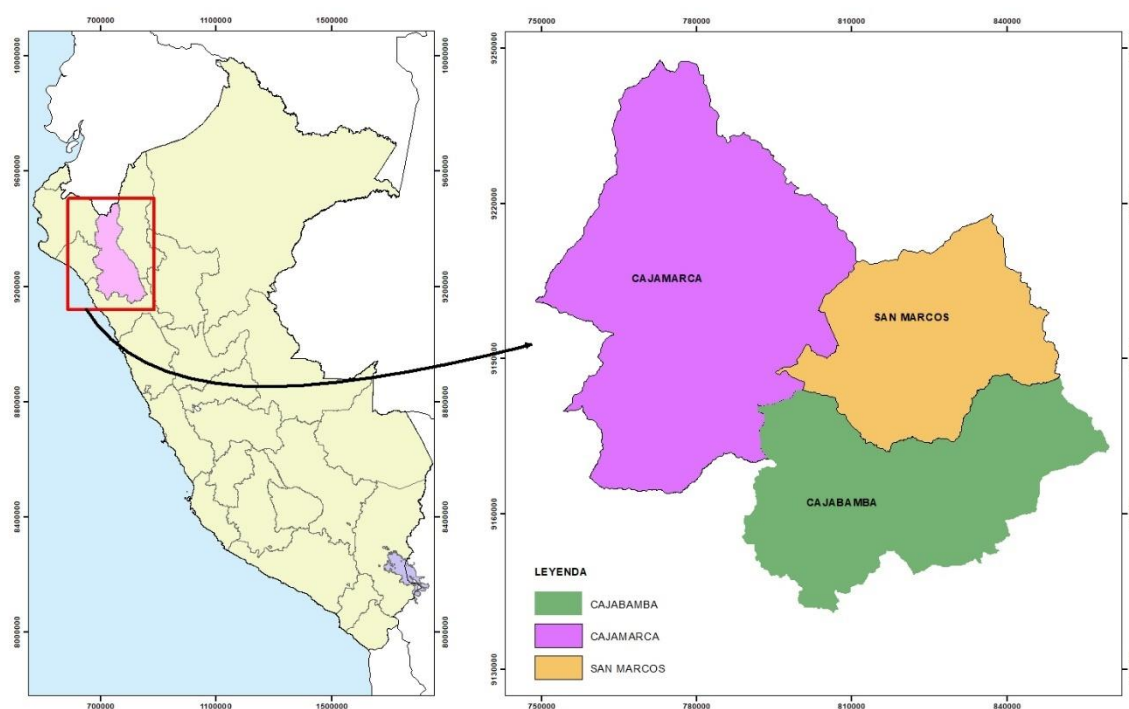


Figura 1. Mapa de los lugares de muestreo en la región Cajamarca

3.2. Diseño de investigación

La presente investigación es de nivel básico descriptivo, no experimental, de corte transversal.

3.3. Población, muestra y unidad de análisis

3.3.1. Población

Todos los cuyes vivos de tres provincias (Cajabamba, San Marcos y Cajamarca) de la zona sur de la región de Cajamarca.

Criterios de inclusión

Cuyes de todas las edades.

Cuyes machos y hembras.

Cuyes positivos a linfadenitis (presencia de ganglios cervicales aumentados de tamaño, con pus) de las tres provincias.

Criterios de exclusión

Todos los cuyes aparentemente sanos de las tres provincias.

3.3.2. Muestra

Para determinar el tamaño muestral se tomó como referencia los datos de la población de cuyes en la región Cajamarca: 2'408,094 cuyes (INE, 2012).

El tamaño de muestra se calculó empleando la fórmula para estimar prevalencias en poblaciones grandes:

$$n_o = \frac{Z^2 \cdot p \cdot (1 - p)}{d^2}$$

Se consideró un nivel de confianza del 95% ($Z=1.96$), una prevalencia del 50% ($p=0.5$) para maximizar la varianza y un error máximo permisible del 6% ($d=0.06$). Dado que no se dispone de estudios previos sobre prevalencia de linfadenitis en cuyes, se asumió una prevalencia esperada del 50% ($p=0.5$), lo que maximiza la varianza y permite obtener un tamaño de muestra adecuada (Daniel, 1999; Dohoo, Martin y Stryhn, 2009).

Al remplazar los valor en dicha formula, se obtuvo:

$$n_o = \frac{1.96^2 \times 0.5 \times 0.5}{0.06^2} = 266.78$$

Cabe precisar que, debido a la gran magnitud de la población de cuyes en la región de Cajamarca con 2'408,094 cuyes, la corrección por población finita no modificó de manera sustancial el tamaño de muestra (266.78 a 266.75). Esto se debe a que, en poblaciones muy numerosas, el efecto de dicha corrección es prácticamente nulo, aunque su aplicación resulta metodológicamente necesaria para garantizar el rigor estadístico del estudio. Finalmente, el valor ajustado fue 266.75, estableciéndose un tamaño de 267 animales. Este número asegura un margen de error real de aproximadamente $\pm 6.01\%$ con un 95% de confianza, lo cual se encuentra dentro de los estándares aceptados en estudios epidemiológicos de campo (Thrusfield, 2018). Considerando por criterio del investigador se escogió al azar los cuyes distribuidos en las tres provincias de la siguiente manera: en Cajabamba 59, San Marcos 32 y Cajamarca 176 cuyes.

3.3.3. Unidad de análisis

Cuy positivo a linfadenitis (presencia de ganglios cervicales aumentados de tamaño).

3.4. Identificación de los cuyes positivos a Linfadenitis

Los cuyes positivos a linfadenitis cervical fueron identificados mediante la detección de la presencia de abscesos en la región cervical al momento de la observación directa y palpación.

3.5. Toma de muestra

Una vez identificado el animal con los ganglios inflamados o aumentados de tamaño, se procedió a la obtención de la muestra (material purulento), para ello se rasuró la zona afectada y se desinfectó con yodo povidona diluido al 1%, para

luego proceder a la obtención del pus (aprox. 0.5 a 1.0 ml), para lo cual se usó una jeringa con aguja hipodérmica de 18G x 1". Luego, se procedió a rotular cada jeringa con los siguientes datos: lugar de procedencia, número de muestra y fecha. Por último, se colocó las muestras identificadas en una caja de Tecnopor con bolsas de hielo y luego se trasladó al Laboratorio Biotecnología en Sanidad Animal del INIA-Baños del Inca, Cajamarca, en donde se procedió con el aislamiento de los agentes bacterianos.

3.6. Identificación microbiológica

3.6.1. Aislamiento de los agentes bacterianos

Del total de 276 muestras, se lograron aislar a 242. Las muestras obtenidas fueron sembradas por estría y agotamiento, con una asa bacteriológica estéril, se colocó aproximadamente 100 µl de material purulento en placas Petri (Biologix) con los cuatro medios de cultivo diferentes (Agar Sangre (Himedia), Agar MacConkey (Merck), Agar Salmonella-Shigella (Merck), y Agar Staphylococcus) (Merck). Las placas fueron incubadas en una Estufa universal Memmert UN-110/ Schwabach/Alemania a 37 °C por un periodo de 18 a 24 horas, o hasta notar la presencia de colonias bacterianas.

3.6.2. Identificación morfológica de los agentes bacterianos

Una vez obtenidas las colonias bacterianas, se realizó el repique hasta la obtención de un cultivo puro. Luego, las colonias aisladas fueron caracterizadas morfológicamente teniendo en cuenta el color, textura, forma, tipo de hemólisis, entre otras. Además, se realizó la tinción de Gram con el objetivo de determinar la morfología de las células bacterianas (Concha, 2014).

Los cultivos aislados fueron conservados en refrigeración (Samsung, RT35K5930S8/PE, México) en viales con agar base a 4 °C, a partir de los cuales se realizó las pruebas siguientes.

3.7. Pruebas bioquímicas

Todos los aislados fueron reactivados utilizando agar nutritivo (Merck) a 37 °C por 18 horas, con el fin de realizar las pruebas bioquímicas para el caso de las bacterias gran negativas.

Las pruebas bioquímicas se realizaron en diferentes medios diferenciales TSI (Difco), LIA (Difco), Agar Citrato de Simmons (Difco), Agar SIM (Difco), lo que permitió la evaluación de las rutas bioquímicas utilizadas por las bacterias para la fermentación de azúcares, descarboxilación de lisina, utilización del citrato como única fuente de carbono, la evidencia de movilidad, la producción de indol, la producción de H₂S, entre otras. También se realizaron pruebas de producción de hemolisina en agar sangre y de catalasa.

3.8. Extracción de ADN genómico

Para la extracción de ADN de las cepas bacterianas aisladas se utilizó la técnica de shock térmico. Se resuspendió 5 colonias en microtubos de 1.5 mL en 200 uL de agua grado molecular estéril, a partir de un cultivo de 18 h de crecimiento, posteriormente la mezcla fue sometida a un proceso de calor y frío de la siguiente manera: 20 minutos a 91 °C y 20 minutos a -20 °C, seguido se llevó a centrifugar a 13 500 rpm durante 8 min, 100 uL del sobrenadante fue transferido a un microtubo estéril (Dashti et al., 2009). Luego se procedió a la medición de la cantidad y calidad del ADN extraído mediante espectrofotometría (Lambda, PCRmax). El ADN se conservó a -20 °C hasta su posterior uso. La calidad, cantidad y la absorbancia de ADN se muestra en el Anexo 3.

3.9. Amplificación del gen 16S ARNr

La amplificación del gen 16S ARNr se realizó mediante reacción en cadena de polimerasa, empleando el primer 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') y el 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3') con un peso de 1400 pb (Dos Santos et al., 2019) en una mezcla de reacción de 25 uL conteniendo 2 uL de ADN (100 ug/mL) de cada una de las muestras, 12.5 de Master Mix (Go Taq® G2

Green Master Mix, 2X-REF M7822), 1 µL de cada cebador y 8.5 de agua grado molecular. Las condiciones de amplificación fueron: activación de la polimerasa: 94 °C por 3 minutos; desnaturalización; 94 °C por 1 minuto; alineación: 55 °C por 1 minuto; extensión: 72 °C por 1 minuto, durante 30 ciclos y una extensión final de a 72 °C por 5 minutos, los productos de PCR luego fueron evaluados en geles de agarosa al 1.0 % empleando Diamond™ Nucleic Acid Dye (Promega, E.EU.U.), la electroforesis fue realizada por 30 minutos a 100 voltios, una vez terminado este tiempo, los amplicones se visualizaron en un transiluminador con luz UV (Labnet, UV transilluminator, Taiwan). Los pasos de la reacción de la PCR se observan en el Anexo 4.

3.10. Amplificación del gen Strep-spp

Para la amplificación del gen Strp-spp se usó la técnica de PCR empleando los primers (5' - CGGGGGATAACTATTGGAAACGATA -3') y el (5'- ACCTGTCACCCGATGTACCGAAGTA -3') con un peso de 912 pb (Arafa et al., 2021) en una mezcla de reacción de 25 ul conteniendo, 2 ul de ADN, 12 de master mix, 0.8 de cada cebador y 9.4 de agua grado molecular. Las condiciones de amplificación fueron: activación de la polimerasa: 94 °C por 2 minutos; desnaturalización; 94 °C por 50 segundos, alineación: 61,4 °C por 55 segundos, extensión: 72 °C por 1 minuto, durante 30 ciclos y una extensión final de a 72 °C por 5 minutos, los productos de PCR luego fueron evaluados en geles de agarosa al 1.0 % empleando Diamond™ Nucleic Acid Dye (Promega, E.EU.U.), la electroforesis fue realizada por 30 minutos a 100 voltios, una vez terminado este tiempo, los amplicones se visualizaron en un transiluminador con luz UV (Labnet, UV transilluminator, Taiwan). Los pasos que se realizaron para la amplificación del Gen se observan en el Anexo 5.

3.11. Secuenciamiento

Se seleccionaron 28 aislamientos para su identificación molecular. Fueron elegidos los aislados que después de realizar las pruebas microbiológicas, entre otras, fueron gran negativas, a la identificación bioquímica dieron como resultado enterobacterias y cocos. Para ello los productos de PCR de los 28 aislamientos fueron enviados a Macrogen

(Corea del Sur), se efectuó un secuenciamiento bidireccional mediante el método de Sanger (Sanger, Nicklen y Coulson, 1977).

Después de obtener las secuencias, con ayuda del programa Chromas pudieron ser visualizados los cromatogramas, y luego editados mediante el programa Aliview 1.27 (Larsson, 2014). Las secuencias editadas se alinearon localmente con las secuencias depositadas en la base de datos del GenBank-NCBI con el uso de la herramienta BLASTn (Altschul et al., 1990). Por último, utilizando secuencias del gen 16S ARNr de especies cercanas, con porcentajes de similitud mayor a 99%, recuperadas del GenBank-NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/search/>), se creó un archivo multi-FASTA con las secuencias obtenidas en este estudio. La inferencia filogenética fue realizada utilizando el método Neighbor-Joining (Saitou y Nei, 1987) en el programa MEGA 10.2 (Kumar et al., 2018), considerando los criterios establecidos por defecto en dicho programa.

3.12. Análisis estadístico

Para el procesamiento de los datos se realizó la estadística descriptiva, se utilizó una hoja de cálculo de Excel (Microsoft 2019). Luego, el análisis de asociación de variables se realizó con el programa IBM SPSS Statistics v. 26, considerando como estadístico de prueba el Chi cuadrado con un nivel de confianza de 95 % y una significancia estadística equivalente a un p-valor $\leq 0,05$.

3.13. Aprobación ética

La investigación fue desarrollada con estricto cumplimiento de los principios éticos para el estudio en animales de experimentación, garantizando el bienestar, el manejo humanitario y la reducción del sufrimiento de los animales, considerando las recomendaciones de la Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio (National Research Council, 2011) y las normas internacionales de la OIE (2021) para el bienestar animal. Asimismo, se aplicaron los principios de las 3R (Reemplazo, Reducción y Refinamiento), priorizando el uso de métodos microbiológicos y moleculares no invasivos, empleando técnicas de muestreo que minimicen el dolor y estrés en los animales (Ruseell y Burch, 1959).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Aislamiento bacteriológico de los cuyes positivos a Linfadenitis cervical en cuyes según lugar de procedencia

Del total de 276 muestras, se obtuvieron 242 aislamientos bacterianos, con un 46,9 %, 9,3 % de enterobacterias provenientes de San Marcos y Cajamarca respectivamente. Se logró identificar que la mayor cantidad de agentes causales son *Streptococcus* spp. con una prevalencia de 43,8 % de San Marcos, 100 % de Cajabamba y 85,4 % de Cajamarca; *Staphylococcus* spp. con un 9,4 % de San Marcos y 5,3 % de Cajamarca; enterobacterias con un 46,9 % de San Marcos y 9,3 % de Cajamarca. Géneros como *Streptococcus* spp y *Staphylococcus* spp han sido reportados por Mescco (2019), quién encontró un 69,77 % positivos a *Streptococcus* spp y un 20,93 % positivos a *Staphylococcus* spp y Estupiñán et al. (2018) en Ecuador, quienes encontraron que *Staphylococcus* spp. era el agente causal en los ganglios linfáticos de un plantel de reproductores de cuyes. Asimismo, en Perú, Concha (2014) identificó *Streptococcus zooepidemicus* en un 90,5 % de muestras de abscesos subcutáneos, además de *Salmonella thyphimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus* y *Micrococcus* spp. Dentro del grupo de enterobacterias se determinó que un agente causal fue *E. coli*, tanto por las pruebas microbiológicas y bioquímica. En otros estudios se reporta enfermedades como cistitis y mastitis en cuyes son por la presencia de *E. coli* como patógeno principal (Wood, 1981)

Así mismo, se encontró una asociación estadísticamente significativa entre las variables lugar de procedencia ($p=0,034$), lo que difiere de lo reportados por Gómez Gallo, Armendáriz Sánchez y Pujos Aranda (2023), quienes señalan que no existe relación entre la incidencia de linfadenitis y el lugar de procedencia de los animales.

Tabla 1: Identificación microbiológica de los agentes causales de Linfadenitis cervical en cuyes en Cajamarca, Cajabamba y San Marcos

Agentes causales de linfadenitis		Lugar			P-valor
		Cajamarca	Cajabamba	San Marcos	
Enterobacterias	n=	14	0	15	0.034
	%	9,3	0,0	46,9	
<i>Staphylococcus</i> spp	n=	8	0	3	
	%	5,3	0,0	9,4	
<i>Streptococcus</i> spp	n=	129	59	14	
	%	85,4	100,0	43,8	
Total	N=	151	59	32	242

4.2. Caracterización morfológica y bioquímica de aislados bacterianos

29 aislamientos fueron bacilos gramnegativos y con características bioquímicas similares, como la fermentación de glucosa, varios fueron negativos para lactosa y sacarosa. Todos son catalasa positivos, indicando la producción de la enzima que descompone el peróxido de hidrógeno, por lo cual estos aislamientos podrían ser patógenos oportunistas que proliferan en condiciones de estrés o inmunosupresión, común en cuyes enfermos. La producción de indol y H₂S en algunos de estos microorganismos, especialmente en la muestra identificada como M27, podría indicar su virulencia y capacidad para causar inflamación en los ganglios linfáticos, contribuyendo así al desarrollo de linfadenitis en los cuyes afectados (Tabla 2). Por otro lado, el aislamiento identificado como 133, presentó las características del género *Vibrio*, confirmando con el secuenciamiento que es *Vibrio metschnikovii*, según Linde et al. (2004) dan a conocer el primer caso de infección postoperatoria de una herida causada por *V. metschnikovii* en un paciente varón de 46 años de edad, no se detectó el foco de infección, pero estaría relacionado con exposición al agua, contacto del paciente con varias especies como pollos, vacas, cerdos, equinos donde se reportan aislamiento de *V. metschnikovii* y puede considerarse infecciones zoonóticas. Del mismo modo, Huang et al. (2023) mencionan que *V. metschnikovii* es un patógeno emergente que ocasiona infecciones humanas

que pueden ser mortales. Sin embargo, Flores et al. (2021) reportaron la presencia de *V. metschnikovii* en un 30,64 % en muestras de 62 peces en cuatro comunidades en la costa del Pacífico en el occidente de Nicaragua, concluyendo que dicho patógeno es típico de ambientes marinos y causa enfermedades al consumir pescado crudo o poco cocido. En tal sentido, las especies de *Vibrio* pueden causar enfermedades en peces, mariscos, mamíferos y seres humanos.

Tabla 2. Identificación bioquímica de los agentes causales de Linfadenitis cervical en cuyes en Cajamarca, Cajabamba y San Marcos

Código	Pruebas bioquímicas									
	Citrato	SIM			TSI			LIA		
		Movilidad	H ₂ S	Indol	Glucosa	Lactosa	Sacarosa	Gas	Descarboxilación	H ₂ S
M13	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
M15	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
M16	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
M17	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
M18	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
M19	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-
M20	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
M21	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
M22	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
M23	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
M25	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
M27	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-
M28	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
M30	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
81	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+
86	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
91	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
95	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
99	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
100	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
101	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-

102	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
103	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
134	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
136	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
138	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
139	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
87	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
133	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-

Se realizó la prueba de catalasa, todos los *Streptococos* fueron negativos y todos los *Staphylococcus* positivos, además se realizó la prueba de coagulasa a este último grupo en el que se halló que no tenía dicha enzima. Por todo lo mencionado se determinó que los cocos agrupados en cadena pertenecen a la especie *Streptococcus*, la cual fue confirmado mediante PCR como se menciona más adelante. Por otro lado, los cocos agrupados en cadena se determinaron que son del género *Staphylococcus* por su crecimiento en medio selectivo, características morfológicas (cocos en racimo) y ser catalasa positivo.

Por otro lado, se encontró en menor número Bacilos Gram negativos (n=28), en los que se encontró características bioquímicas similares, para ello se utilizó los medios bioquímicos TSI, LIA, Citrato y SIM. En la figura 2 se observa la utilización de citrato como única fuente de carbono, la fermentación de azúcares (glucosa, sacarosa y lactosa) y producción de gas, descarboxilación de lisina y movilidad e indol negativo; este perfil bioquímico corresponde al aislado M22. Mientras que en la figura 3 se observa el perfil bioquímico de la mayoría de las bacterias en mención: citrato negativo, fermentación solo de glucosa, descarboxilación de lisina y movilidad e indol negativo. Asimismo, en la figura 4, se muestra el resultado del aislamiento identificado con código M18, citrato negativo, fermentación solo de glucosa, sin producción de gas, descarboxilación de lisina, indol negativo y la figura 5, citrato negativo, con movilidad e indol positivo, con fermentación de glucosa, lactosa y sacarosa, descarboxilación de lisina positivo, sin producción de gas. En la tabla 2 se muestra el perfil bioquímico de todas las bacterias Gram negativas y mediante estas pruebas se determinó los géneros *Salmonella*, *Escherichia* y *Hafnia* las cuales se confirmó las especies por secuenciamiento y análisis bioinformático.



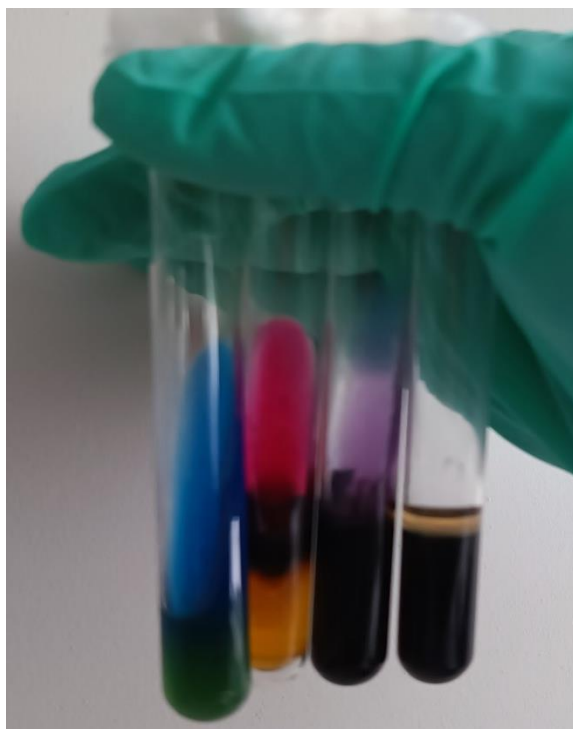
Citrato	TSI	LIA	SIM
---------	-----	-----	-----

Figura 2. Resultados de del aislamiento con código M22. Gram negativo. Prueba de citrato (+);TSI, reacción ácido/ácido/gas(+)/H₂S(-);LIA, descarboxilación (+)/H₂S(-);SIM, movilidad(+)/indol(-)/H₂S(-)/



Citrato	TSI	LIA	SIM
---------	-----	-----	-----

Figura 3. Resultados del aislamiento con código M15. Gram negativo. Prueba de citrato (-);TSI, reacción alcalino/acido/gas(-)/H₂S(-);LIA, descarboxilación (+)/H₂S(-);SIM, movilidad(-)/indol(-)/H₂S(-)/



Citrato	TSI	LIA	SIM
---------	-----	-----	-----

Figura 4. Resultados del aislamiento con código M18. Gram negativo. Prueba de citrato (+);TSI, K/A, /H₂S(+);LIA, K/K (+)/H₂S(+);SIM, movilidad(+)/indol(-)/H₂S(/



LIA	CITRATO	TSI	SIM
-----	---------	-----	-----

Figura 5. Resultados del aislamiento con código M27. Gram negativo. LIA, K/K (+)/H₂S(-); Prueba de citrato (-);TSI, A/A, /H₂S(-);SIM, movilidad(+)/indol(+)/H₂S(-)/

4.3. Amplificación del gen 16S ARNr

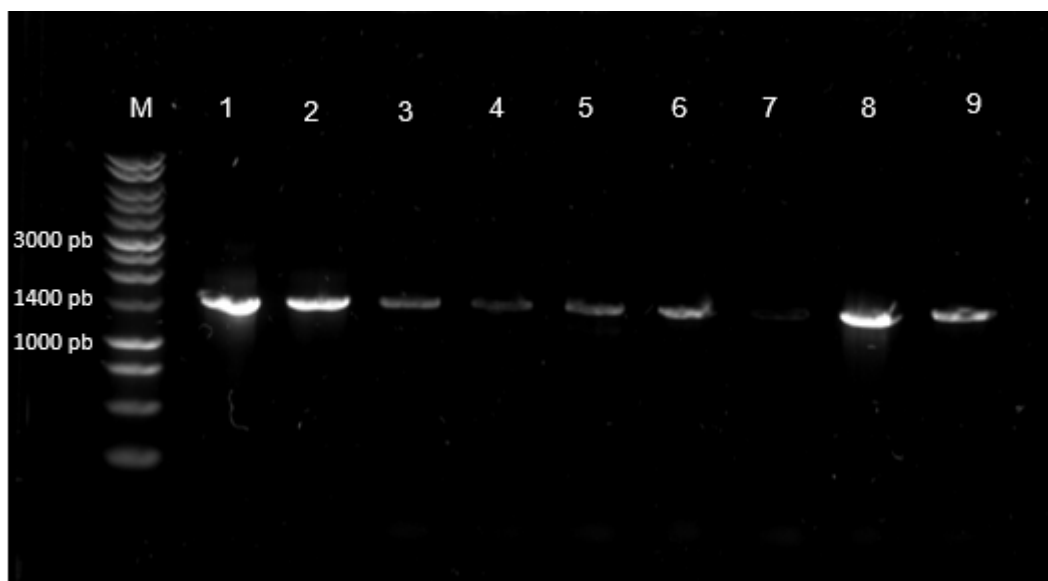


Figura 6. Electroforesis en el gel de agarosa al 1% del gen 16S ARNr. Carril M marcador de peso molecular de 10 000 pb (1kb). Los carriles del 1 al 9, a excepción del 7, corresponden a los diferentes aislamientos amplificadas como una única banda de 1400 pb, carril M, marcador de peso molecular de 10000 pb.

Del total de las 267 muestras recolectadas. Se obtuvo 242 aislamientos bacterianos que amplificaron el gen ARNr 16S (1400 pb) (Figura 6). Todos los aislados se realizaron a través del mismo patrón. Confirmando que todos los aislamientos pertenecen al dominio bacterias, es decir, estas bacterias contienen el material genético específico amplificado por esta técnica, lo que sugiere que están presentes en la muestra analizada. El gen 16S rRNA es altamente conservado y se utiliza comúnmente para la identificación y clasificación de bacterias debido a que proporciona información sobre las especies bacterianas que causan los síntomas de enfermedades como la linfadenitis, y ello puede ayudar en el diagnóstico, tratamiento y control de esta infección.

4.4. Amplificación del gen *Strep- spp*

De los 242 aislamientos, la mayoría fueron identificados microbiológicamente gran positivos, por lo que se consideró importante realizar la amplificación del gen *Strep- spp*. Se obtuvieron amplicones de 912 pb en 201 muestras (Figura 7), confirmando que la presencia del género *Streptococcus spp.* es uno de los agentes causales de linfadenitis en cuyes.

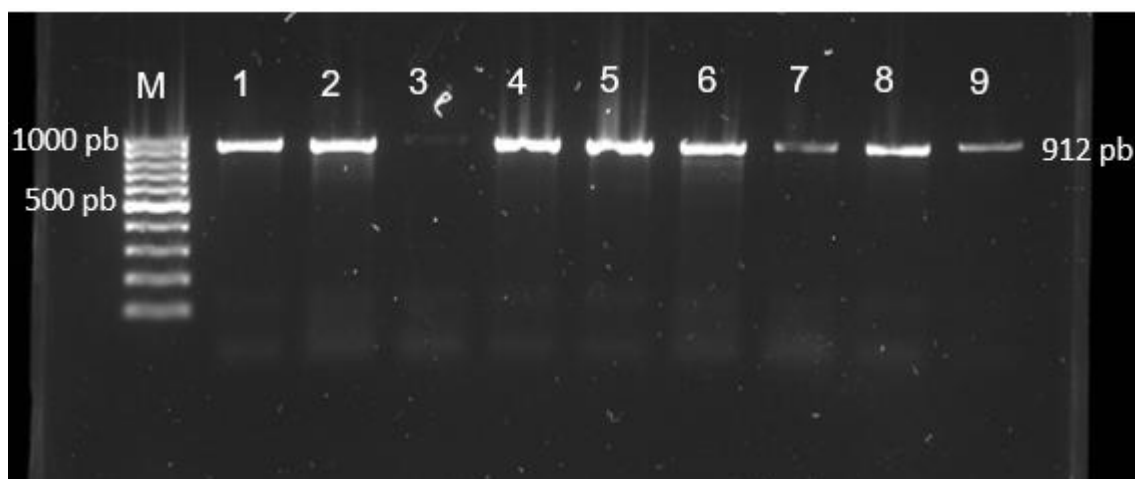


Figura 7. Electroforesis en gel de agarosa al 1% del gen Strep- spp. Los carriles del 1 al 9 a excepción del 3 corresponden a diferentes aislamientos Gram positivos amplificados como una única banda de 912 pb, carril M, marcador de peso molecular de 1000 pb (1 Kb).

Las bacterias del género *Streptococcus* son relevantes y fueron las que se encontraron en mayor cantidad en esta investigación, específicamente, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes* han sido aislados en casos de infecciones que afectan a estos animales (Barrios-Arpi y Morales-Cauti, 2020; Ordóñez *et al.*, 2024). Estas bacterias son conocidas por causar infecciones respiratorias, que pueden diseminarse a los ganglios linfáticos cercanos, provocando así inflamación y linfadenitis (Flores, 2018; Estupiñán *et al.*, 2018). En cuyes, la infección dada por este género puede surgir después de un compromiso del sistema inmunológico, lo que permite que estas bacterias proliferen; así mismo, el estrés, las condiciones de hacinamiento y una nutrición inadecuada son factores que pueden predisponer a los cuyes a estas infecciones (Jara *et al.*, 2023).

No obstante, los estudios moleculares y genéticos enfocados en esta bacteria y sus diversas especies son escasos, en cuyes este microorganismo es uno de los principales patógenos, tanto en la crianza familiares, como en los sistemas de producción comercial; diversos estudios han reportado una frecuencia de aislamiento de hasta un 20% en cobayos, vinculada en su mayoría a lesiones patológicas como la linfadenitis cervical purulenta en las zonas altas del centro de Perú, y tasas que oscilan entre el 70% y el 100% en otras áreas del país (Angulo-Tisoc, Siuce y Jara, 2021; Jara *et al.*, 2023).

En la linfadenitis en cuyes, las bacterias del género *Streptococcus*, y en particular *S. zooepidemicus*, son patógenos de importancia debido a su capacidad de causar infecciones invasivas y recurrentes (Gruszynski et al., 2015). Estos organismos poseen una serie de factores de virulencia que facilitan su invasión y supervivencia en el huésped, destacando las proteínas de superficie como las adhesinas y las invasinas, que permiten que la bacteria se adhiera y penetre en los tejidos del huésped, incluyendo los linfáticos. *S. zooepidemicus* tiene la capacidad de crear una cápsula de ácido hialurónico que lo protege del sistema inmunológico al mimetizarse con los tejidos del hospedador y evadir la fagocitosis. Entre los genes encargados de codificar estas proteínas, se encuentran los *hasA* y *hasB* para la cápsula, y el gen *szm*, el cual regula las proteínas de adhesión (Prasad, Ramachandran y Jayaraman, 2012; Steward et al., 2017).

Además, *Streptococcus zooepidemicus* secreta exotoxinas, como estreptolisinas y estreptocinasas, estos mecanismos y los mecanismos antes mencionados pueden presentar variaciones en respuesta al ambiente del hospedador, lo cual podría explicar la adaptación de *S. zooepidemicus* en diferentes especies, incluyendo los cuyes, y en distintos entornos. La capacidad de desarrollar biopelículas en algunos tejidos permite que estas bacterias resistan las respuestas inmunológicas y tratamientos antimicrobianos, dificultando la erradicación de la infección (Steward et al., 2017). Este complejo conjunto de factores de virulencia en *Streptococcus* resalta su versatilidad como patógeno oportunista y su potencial de adaptación para infectar diversos huéspedes, incluyendo cuyes.

4.5. Identificación molecular mediante el gen ARN 16S

Identificación de las secuencias

1. Secuencia del Aislamiento 81

1.1. Forward_81

```
TTGCTGCTTCGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAACTGCCTGATGGAGG
GGGATAACTACTGGAAACGGTGGCTAATACCGCATAACGTTCGCAAGACCAAAGAGGGGGACC
TTCGGGCCTCTTGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTTGTTGGTGAGGTAACGGCTC
ACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCCACTGGAAGTGAAGACACG
GTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGC
AGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTCAGCGGGGAGGAAGG
```

TGTTGTGGTTAATAACCGCAGCAATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTG
 CCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCA
 CGCAGGCGGTCTGTCAAGTCGGATGTGAAATCCCCGGCTCAACCTGGGAACTGCATTGCGAAA
 CTGGCAGGCTTGAGTCTTGATAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGA
 GATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCG
 AAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCTACT
 TGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTAGACCGCCTGGGG
 AGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCAT
 GTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACAGAACTTTCCAG
 AGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACTGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGT
 TGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGATTAG
 GTCGGGAACTCAAGGAGACTGCC

1.2. Reverse_81

GCCGCGTGATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTACGCGGGGAGGAAGGTGTTGT
 GGTTAATAACCGCAGCAATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGC
 AGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCA
 GGCGGTCTGTCAAGTCGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTGCGAACTG
 GCAGGCTTGAGTCTTGATAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGAT
 CTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAA
 GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCTACTTGG
 AGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTAGACCGCCTGGGGAGTA
 CGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTG
 GTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACAGAACTTTCCAGAGA
 TGGATTGGTGCCTTCGGGAACTGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGT
 GAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGATTAGGTC
 GGGAACTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATC
 ATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGACCTC
 GCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTGCCTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTC
 CATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGAATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGCC
 TTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGT

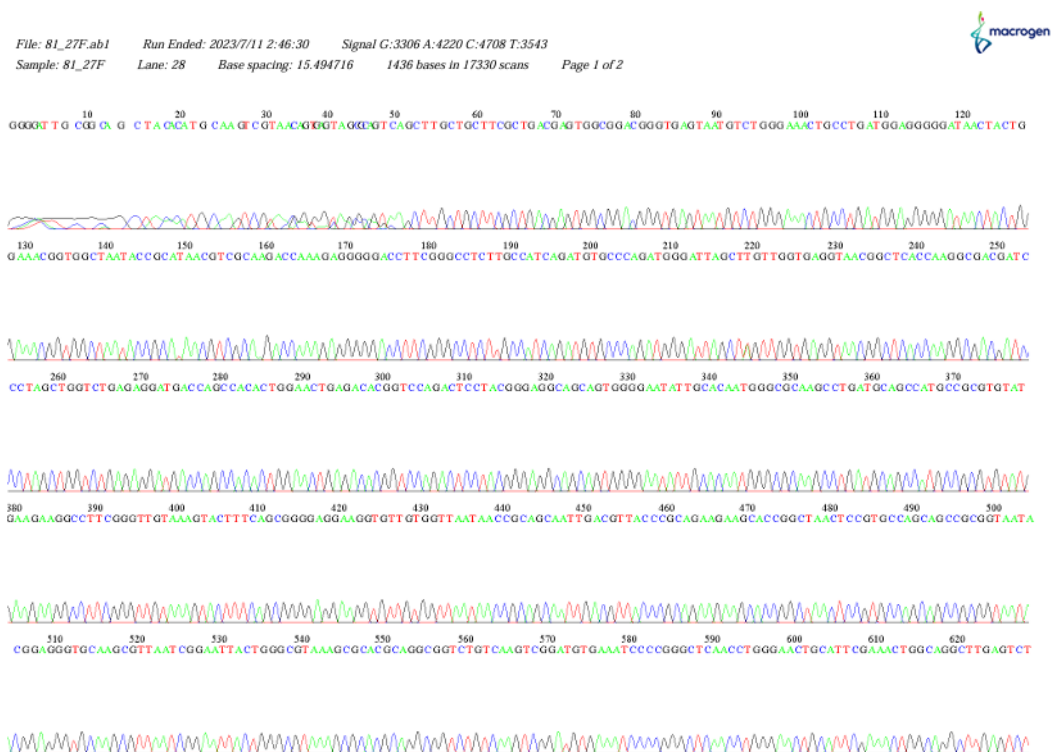
1.3. Consenso_81

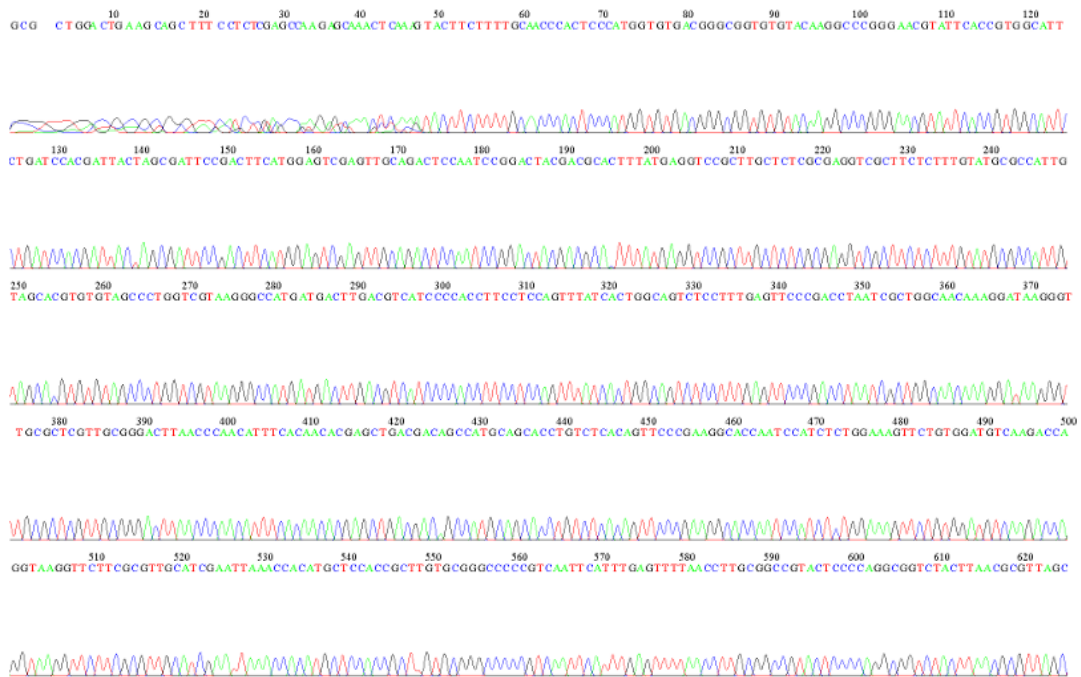
TTGCTGCTTCGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAACTGCCTGATGGAGG
 GGGATAACTACTGGAAACGGTGGCTAATACCGCATAACGTGCAAGACCAAAGAGGGGGACC
 TTCGGGCCTCTTGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTTGTTGGTGAGGTAACGGCTC
 ACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAGTGAAGACAG
 GTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGC
 AGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTACGCGGGGAGGAAGG
 TGTTGTGGTTAATAACCGCAGCAATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTG

CCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCA
 CGCAGGCGGTCTGTCAAGTCGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAAGTGCATTGAA
 ACTGGCAGGCTTGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAG
 AGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGC
 GAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCTAC
 TTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTAGACCGCCTGGG
 GAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGC
 ATGTGGTTTAATTTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACAGAACTTTCCA
 GAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAAGTGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTG
 TTGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGATTA
 GGTCGGGAAGTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAG
 TCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCG
 ACCTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTGCCTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTC
 GACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGAATGCCACGGTGAATACGTTCCC
 GGGCCTTGACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGT

1.4. Electroferograma del aislamiento 81

El aislamiento codificado como 81 fue analizado a través de secuenciamiento Sanger mediante el secuenciador automático ABI que traduce señales fluorescentes en la secuencia de bases correspondientes.





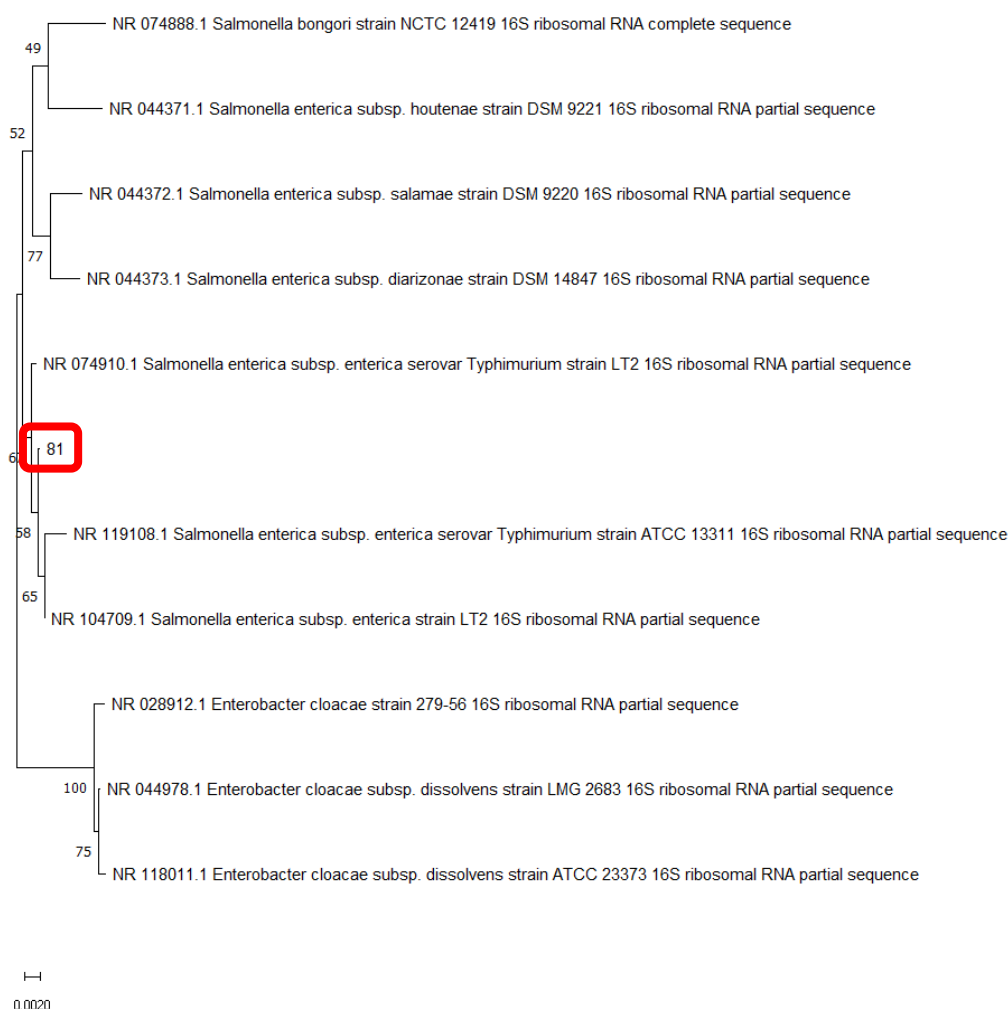
1.5. Análisis bioinformático del aislamiento 81

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
Salmonella enterica subsp. enterica strain LT2 16S ribosomal RNA, partial sequence	Salmonella enterica subsp. enterica	100%	99.70%	1467	NR_104709.1
Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium strain LT2 16S ribosomal RNA, partial sequence	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium	100%	99.78%	1544	NR_074910.1
Salmonella enterica subsp. diarizonae strain DSM 14847 16S ribosomal RNA, partial sequence	Salmonella enterica subsp. diarizonae	100%	99.34%	1368	NR_044373.1
Salmonella enterica subsp. salamae strain DSM 9220 16S ribosomal RNA, partial sequence	Salmonella enterica subsp. salamae	100%	99.04%	1448	NR_044372.1
Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium strain ATCC 13311 16S ribosomal RNA, partial sequence	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium	99%	99.48%	1539	NR_119108.1
Enterobacter cloacae subsp. dissolvens strain LMG 2683 16S ribosomal RNA, partial sequence	Enterobacter cloacae subsp. dissolvens	100%	98.67%	1495	NR_044978.1
Salmonella enterica subsp. houtenae strain DSM 9221 16S ribosomal RNA, partial sequence	Salmonella enterica subsp. houtenae	100%	98.52%	1437	NR_044371.1
Enterobacter cloacae subsp. dissolvens strain ATCC 23373 16S ribosomal RNA, partial sequence	Enterobacter cloacae subsp. dissolvens	100%	98.60%	1507	NR_118011.1
Salmonella bongori strain NCTC 12419 16S ribosomal RNA, complete sequence	Salmonella bongori	100%	98.52%	1542	NR_074888.1
Enterobacter cloacae strain DSM 30054 16S ribosomal RNA, partial sequence	Enterobacter cloacae	100%	98.52%	1529	NR_117679.1

1.6. Árbol filogenético del aislamiento 81

Filogenia basado en secuencias del gen 16S rRNA, utilizado ampliamente como marcador molecular en estudios de taxonomía bacteriana. Este árbol compara diferentes cepas y subespecies de *Salmonella enterica*, *Salmonella bongori* y *Enterobacter cloacae*. Este resultado confirma la utilidad del marcador molecular 16S rRNA para la discriminación a nivel de género bacteriano (Janda y Abbott, 2007). Las cepas correspondientes a *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium (NR 074910.1 y NR 119108.1), junto con la cepa modelo LT2 (NR 104709.1), se agrupan en un mismo clado con soporte moderado (65–81), lo que la cual confirma la coherencia genética entre las cepas de estudio y las de referencia. Este hallazgo valida el empleo de LT2 como modelo de estudio en investigaciones microbiológicas y moleculares (McClelland et al., 2001).



2. Secuencia del aislamiento 87

2.1. Forward_87

GCGTGGCGGCAGCTACACATGCAGTCGAGCGGTAGCACAGGGAAACTTGG
TTCTGTGTGACAAGAGCCGGAGAGGTGAGAAAAGTGTGGGGAAGTGTCTG
TGAGAGAGGGGAGATCAACAGGAAACAGGGTCTCATACACCACAAAGTCTC
CAGACCCCAGTGTGGGACCTTCTGGCCCCACGCGATCTCATATGTCCCCA
TAGGATTATCTCTTATGTGGGGTGATGTGTCTCCTATGCGACAATATCTA
TCTGGTGTGAGAGAATAACACCCCACACTGTGGATGAGACACGGTCCCCA
CACCCCCCGAGGGGGAACTGGGGAATATTGTGCAATGTGCGCACGCCTG
ATGCGCACCTGTGCCGTGTGTGAGAAAAGCCTTCTGGGTTTAAACACTT
TTTCCGAGAAGGAGAGGGGTTGTGTTTTTATCACATTGTGTTTTGATTTT
TCTCAGAAAAAAACAACCTCTACTCTGTGCTCTCTGCCCCGGTGAAATAG
AGGGGGGAGGCCGTTTTCTGAAATTAAAAACACGGGCTGCACACGCGCCG
GGTGCGCCCCCACATTCAATAAATACACACCCTCCTGACATACGCCCTA
CAACTCGACTGGTCTCGTTCTTTCTTGTTGCGGCGCAGAGACGCACAACC
TCGGCGTCGACGTCAAACTGCGTGGAACCTACCGAGGATCGACGGGGTCTC
CTCCCCCCCCCAACGCACCTGAGCGTCAGTTGTGTGCGGGCGCCAGCGGA
GCGATGGCTTCCGCCCACTCCTAATCCATAACAACCTACGCGGAAGTCTGC
CCCTTCTGCCTACTCTGCTGATCTTTAAGCTGTGCTAGGGATACGGCGAG
GAGTCACATGTTATAAGACATCATCAGCCGCGCTCTACGCCGAGCGTGCG
ATAGTGTTCAACCTCTTATACAGCTGCTGCTCTCCAGACTCTCACACTCT
CTATGCTATACTTCGTCCAGGACGTATAACGCACTCTCGTCGTGCTGACG
TTCTTCATAGTATTGCTCTTCATAGCAAGATGCATCATCAGCTCGTCGCT
GCATCTACTCGTCGCATACCCGTAGAGATCTCATTGGTGAAGCTGCTACT
CTTGAGAGTGTGCGGAGTACTGCAGGCTCCAGACACGCGAATGTTATCTC
GCGTAGCACTTTCCCTCAGTAGCATGATGCATCTGACCCATCATACGAAG
TTGTGCATTCGTAGACTATGCGAGAGGCCCGATTACGCCTCATCTAATGC
AG

2.2. Reverse_87

TATCTGATCAAAGTGGTAGCGCCCTCCCGAAGGTTAAGCATACACTACTT
TACTTTTGCAACAACACTCCCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCC
CGGGAACGTATTCACCGTAGCATTCTGATCTACGATTACTAGCGATTCCG
ACTTCACGGAGTCGAGTTGCAGACTCCGATCCGGACTACGACGTACTTTA
TGAGGTCCGCTTGCTCTCGCGAGTTCGCTTCTCTTTGTATACGCCATTGT
AGCACGTGTGTAGCCCTACTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCATCC
CCACCTTCCTCCGGTTTATCACCGGCAGTCTCCTTTGAGTTCCCACCATT
ACGTGCTGGCAACAAAGGATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCC
AACATTTACAACACGAGCTGACGACAGCCATGCAGCACCTGTCTCATAG
TTCCCCAAGGAACTAACTATCTCTAGCGAATTCTCTGGATGTCAAGAGA
AGGTGAGGTTCTTCTCGTTTCATCGCATTAAACCACATGCTCCACACCTG
GTGCGGGGCTAGTTCAAATCATATTGACTTTTAATCTAAGCTTTTCGCACT
CCTCCTCCGGACGACCTCGTGCTTTCATTTCAGGTGCCGAGCGCACTCAC
GGCCGCGCCGCCAAGGTGACAACCTATATAGGAGTACAGGGTCGAGCACA
AGGAATCTCCCCTGCATGCTGACCGACTCTGACGTCCGAAATCGTCGCGG
AGCCAAGCTGAGGAGATCCCCCGCCACACCACGCTGTAATACAATGTCT
ACTTCGAGGTTGTGTCCATAGAGTGCGTGGCTTACACCAGCTAAATTCAT
TCAAGTCTACCGCACTGAGTGAGTACGGGCGGTGAGGTCAAAAAGTGATA
TAGAATTTGAACATCAGCTCACTAACTCGCCGTGAGCAGCTCTGTGCAT
ACAGCTCCCATTCAGACTTATAACAACCTACTAGCTCTCCAAAACATCCC
GCAGCAGCTCCCCAATACCTTACTCTGACCTTCTGCTAGCATCACATAAA
GGCAAGGTGCATACGATCGGCTTAAGGACAAGTCATAGTCGAAGATCTGG
CTTTTAATAAAAAGCCAAGAAAGGAAATGCCTTCAGTCCATCGTTGCTTG

2.3. Consenso_87

GTCGAGCGGTAGCACAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGGACG
GGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAAC
GGTAGCTAATACCGCATGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGC
CTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGG
CTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTG
GAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTG
CACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCT
TCGGGTTGTAAAGTACTTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCG
CAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAG
CCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAG
CGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGG
GAACTGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTC
CAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAG
GCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCA
AACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTGCACTTGGAG
GTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCC
TGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCG
ACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCT
ACTCTTGACATCCAGAGAATTTGCTAGAGATGCTTTAGTGCCTTCGGGAATC
TGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGGTTGGGT
TAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGT
GGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGAC
GTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCA
TATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTATGTC
GTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGT
AATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACC
GCCCGTCACACCATGGGAGTGGTGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGCTTAACCTT
CGGGAGG

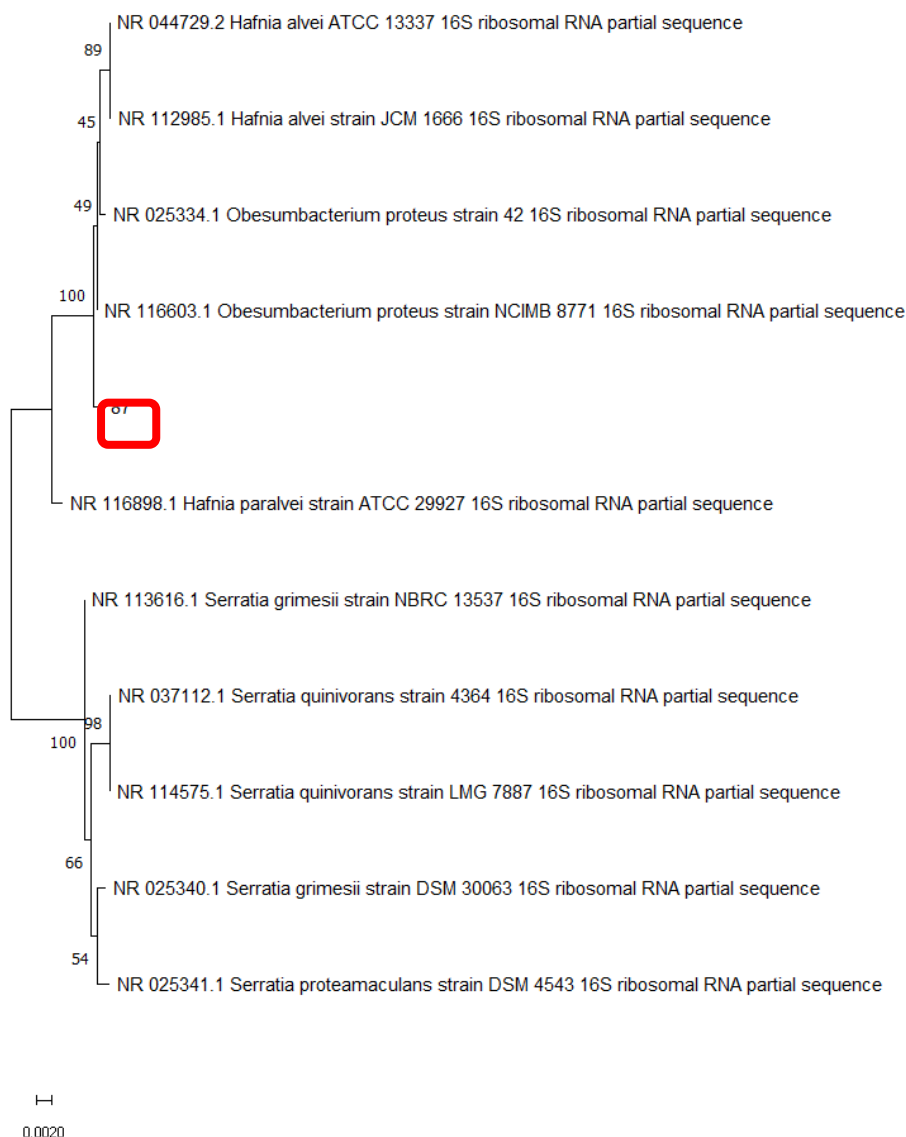
2.5. Análisis bioinformático del aislamiento 87

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
<u>Obesumbacterium proteus strain 42 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Obesumbacterium proteus</u>	100%	99.57%	1490	<u>NR_025334.1</u>
<u>Hafnia alvei strain JCM 1666 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia alvei</u>	100%	99.57%	1473	<u>NR_112985.1</u>
<u>Obesumbacterium proteus strain NCIMB 8771 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Obesumbacterium proteus</u>	100%	99.29%	1436	<u>NR_116603.1</u>
<u>Hafnia alvei ATCC 13337 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia alvei ATCC 13337</u>	100%	99.29%	1488	<u>NR_044729.2</u>
<u>Hafnia paralvei strain ATCC 29927 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia paralvei</u>	100%	98.79%	1495	<u>NR_116898.1</u>
<u>Serratia quinivorans strain 4364 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia quinivorans</u>	100%	97.86%	1508	<u>NR_037112.1</u>
<u>Serratia quinivorans strain LMG 7887 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia quinivorans</u>	100%	97.79%	1464	<u>NR_114575.1</u>
<u>Serratia proteamaculans strain DSM 4543 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia proteamaculans</u>	100%	97.72%	1502	<u>NR_025341.1</u>
<u>Serratia grimesii strain DSM 30063 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia grimesii</u>	100%	97.72%	1495	<u>NR_025340.1</u>
<u>Serratia grimesii strain NBRC 13537 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia grimesii</u>	100%	97.51%	1468	<u>NR_113616.1</u>

2.6. Análisis filogenético del aislamiento 87

Se identificaron *Hafnia*, *Obesumbacterium* y *Serratia*, evidenciando la separación filogenética de los géneros, con soporte alto en los nodos críticos. *Hafnia alvei* y *Hafnia paralvei* se diferenciaron en ramas independientes, lo que confirma la validez taxonómica de esta última como especie distinta (O'Hara et al., 2016). Asimismo, *Obesumbacterium proteus* conformó un clado robusto (bootstrap 100), evidenciando alta consistencia filogenética. En el caso del género *Serratia*, las especies *S. grimesii* y *S. quinivorans* se agruparon estrechamente (bootstrap 98), reflejando su proximidad genética, mientras que *S. proteamaculans* mostró mayor divergencia, corroborando la diversidad intragenérica descrita previamente (Grimont y Grimont, 2006).



3. Secuencia del Aaslamiento 91

3.1. Forward_91

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGGACGGGTGAG
TAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCA
TGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGG
GATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGA
TGACCAGCCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAA
TATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGT
TGTAAGTACTTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGTTACT
CGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCG
TTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCC
CGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGA
ATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCC
CCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCT
GGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTGACCTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGA
GCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTG
ACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGATGCAACGCGAAGAACCTTAC
CTACTCTTGACATCCAGAGAATTT

3.2. Reverse_91

CAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTTCAG
CGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACC
GGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTG
GGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGG
AACTGCATTTGAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCG
GTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACT
GACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGT
AAACGATGTGCACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGAGCTAACGCGTTAAGT
CGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCAC
AAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCC
AGAGAATTTAGTAGAGATAGTTTAGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGT
CGTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGT
TGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGG
GGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCATATA
CAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGG
AGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTG
AATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAG
TAGGTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCT

3.3. Consenso_91

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCG
GACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTG
GAAACGGTAGCTAATACCGCATGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTC
GGGCCTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGT
AATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCA
CACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAA
TATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAG
GCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATA
ACCGCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCA
GCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGT
AAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAAC
TTGGGAACTGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGA
ATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGC
GAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGG
AGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGACTT
GGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGAC
CGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGC
CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTT
ACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTAGTAGAGATAGTTTAGTGCCTTCGGGA
ACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTG
GGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCACGTAAT
GGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGAT
GACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATG
GCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTAT
GTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCT
AGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACAC
ACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGCTTAACC
TTCGGGAGGGGCGCT

3.5. Análisis bioinformático del aislamiento 91

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
<u>Hafnia alvei strain JCM 1666 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia alvei</u>	100%	99.57%	1473	<u>NR_112985.1</u>
<u>Obesumbacterium proteus strain NCIMB 8771 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Obesumbacterium proteus</u>	100%	99.36%	1436	<u>NR_116603.1</u>
<u>Hafnia alvei ATCC 13337 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia alvei ATCC 13337</u>	100%	99.29%	1488	<u>NR_044729.2</u>
<u>Obesumbacterium proteus strain 42 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Obesumbacterium proteus</u>	100%	99.36%	1490	<u>NR_025334.1</u>
<u>Hafnia paralvei strain ATCC 29927 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia paralvei</u>	100%	98.79%	1495	<u>NR_116898.1</u>
<u>Serratia quinivorans strain 4364 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia quinivorans</u>	100%	97.87%	1508	<u>NR_037112.1</u>
<u>Serratia quinivorans strain LMG 7887 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia quinivorans</u>	100%	97.80%	1464	<u>NR_114575.1</u>
<u>Serratia proteamaculans strain DSM 4543 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia proteamaculans</u>	100%	97.73%	1502	<u>NR_025341.1</u>
<u>Serratia grimesii strain DSM 30063 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia grimesii</u>	100%	97.73%	1495	<u>NR_025340.1</u>
<u>Serratia grimesii strain LMG 7883 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia grimesii</u>	100%	97.66%	1461	<u>NR_114576.1</u>

3.6. Análisis filogenético del aislamiento 91

El árbol filogenético construido a partir del gen 16S rRNA de manera clara la separación entre los géneros *Hafnia*, *Obesumbacterium* y *Serratia*. En *Hafnia*, las cepas de *H. alvei* se agrupan juntas, mientras que *H. paralvei* aparece en una rama independiente, confirmando su estatus como especie distinta (O'Hara et al., 2016).



4. Secuencia del aislamiento 95

4.1. Forward_95

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGGACGGGTGAG
TAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCA
TGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGG
GATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGA
TGACCAGCCACACTGGAAGTGGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAA
TATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGT
TGTAAGTACTTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGTTACT
CGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCG
TTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCGAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCC
CGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGA
ATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCC
CCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCT
GGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTGACCTGGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGG
AGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATT
GACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTA
CCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTGCTAGAGATGCTTTAGTGCCTTCGGGACTCTGAGACAG
TGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCG

4.2. Reverse_95

GAGGAGGAGGGCATTGTGGTTAATAACCACAGTGATTGACGTAAGGAGCACCAGG
CTAATTCCGTGCCCCGAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCCAGCGTTTATTGGAATTACTGGG
CGTAAAGCGCACGCCGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAA
CTGCATTTGAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGT
GAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGA
CGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAA
ACGATGTGCACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCG
ACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACGA
GCGGTGGAGCATGTGGTTTATTTTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAG
AGAATTTGGTAGAGATAGTTTAGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCG
TCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTG
CCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGG
ATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCATATACA
AAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTATGTGCTAGTCCGGATTGGAG
TCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAA
TACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAAGT
AGGTAGCTTAACCTTCGGGAGGGC

4.3. Consenso_95

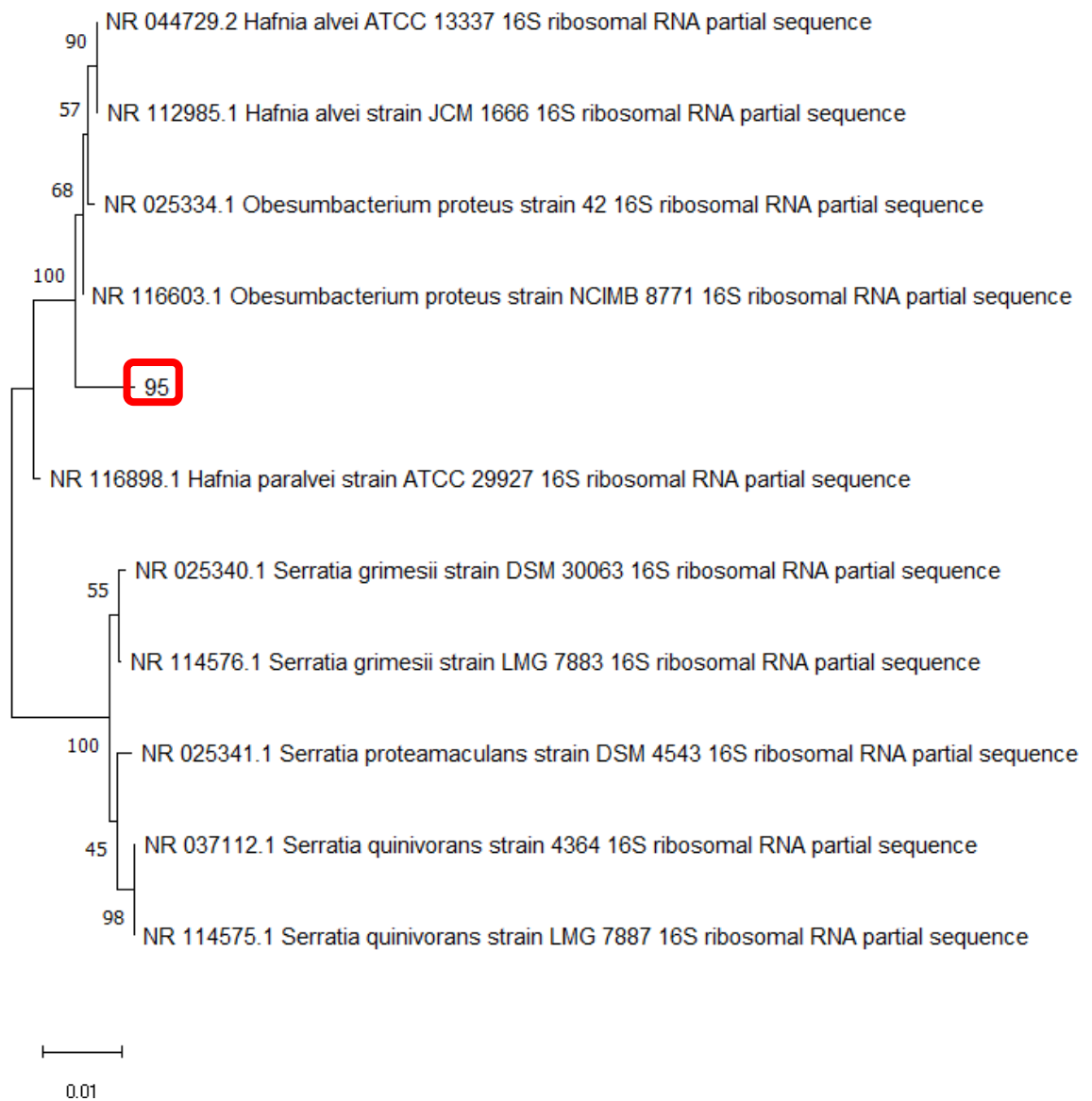
TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCG
GACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTG
GAAACGGTAGCTAATACCGCATGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTC
GGGCCTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGT
AATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCA
CACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAA
TATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAG
GCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATA
ACCACAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGGAGCACCGGCTAATTCCGTGCCC
GCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCCAGCGTTTATTGGAATTACTGGGCGT
AAAGCGCACGCCGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAAC
TTGGGAACTGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGA
ATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGC
GAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGG
AGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGACTT
GGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGA
CCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGG
CCCGCACGAGCGGTGGAGCATGTGGTTTATTTTCGATGCAACGCGAAGAACCT
TACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTGGTAGAGATAGTTTAGTGCCTTCGGG
AACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTT
GGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCACGTAA
TGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGA
TGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAAT
GGCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTA
TGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGC
TAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACA
CACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAAGTAGGTAGCTTAA
CCTTCGGGAGGGC

4.5. Análisis bioinformático del aislamiento 95

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
Hafnia alvei strain JCM 1666 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia alvei	100%	98.79%	1473	NR_112985.1
Obesumbacterium proteus strain NCIMB 8771 16S ribosomal RNA, partial sequence	Obesumbacterium proteus	100%	98.58%	1436	NR_116603.1
Obesumbacterium proteus strain 42 16S ribosomal RNA, partial sequence	Obesumbacterium proteus	100%	98.72%	1490	NR_025334.1
Hafnia alvei ATCC 13337 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia alvei ATCC 13337	100%	98.51%	1488	NR_044729.2
Hafnia paralvei strain ATCC 29927 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia paralvei	100%	98.08%	1495	NR_116898.1
Serratia quinivorans strain 4364 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia quinivorans	100%	97.23%	1508	NR_037112.1
Serratia quinivorans strain LMG 7887 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia quinivorans	100%	97.17%	1464	NR_114575.1
Serratia proteamaculans strain DSM 4543 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia proteamaculans	100%	97.09%	1502	NR_025341.1
Serratia grimesii strain DSM 30063 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia grimesii	100%	97.09%	1495	NR_025340.1
Serratia grimesii strain LMG 7883 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia grimesii	100%	97.02%	1461	NR_114576.1

4.6. Análisis filogenético del aislamiento 95



5. Secuencia del aislamiento 99

5.1. Forward_99

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGGACGGGTGAG
TAATGTCTGGGAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCA
TGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGG
GATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGA
TGACCAGCCACACTGGAAGTGGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAA
TATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGT
TGTAAGTACTTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGTTACT
CGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCG
TTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCGAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCC
CGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGA
ATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCC
CCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCT
GGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTGCGACCTGGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGG
AGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATT
GACGGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTT
ACCTACTCTTGACTTCCAGAGAATTTGCTAGAGATGCTTTAGTGCCTTCGGGACTCTGAGACA
GGTGCTGCAGGCTGTCGTCACCTCGGGTTGTGAAAAGGT

5.2. Reverse_99

GGGAATTTTCCCAAGGGCGCCAGCCTGATGCAGCCCTGCCGCGTTTTTTGAAGAAGCCTTCG
GGTTGTAAAGTACTTTAAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCACAGTGATTGACGTA
CTCGCAGAAGGAGCACGGGCTAATTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCCAG
CGTTTATTGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCCGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATC
CCCGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTGA
GAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGG
CCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACC
CTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTGCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCG
GAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAAT
TGACGGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTT
ACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTAGCAGAGATAGTTTAGTGCCTTCGGGAACTCTGAGAC
AGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGC
GCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATA
AACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACAGC
TGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTAT
GTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAG
ATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACACCATGGGA
GTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCTACCAC

5.3. Consenso_99

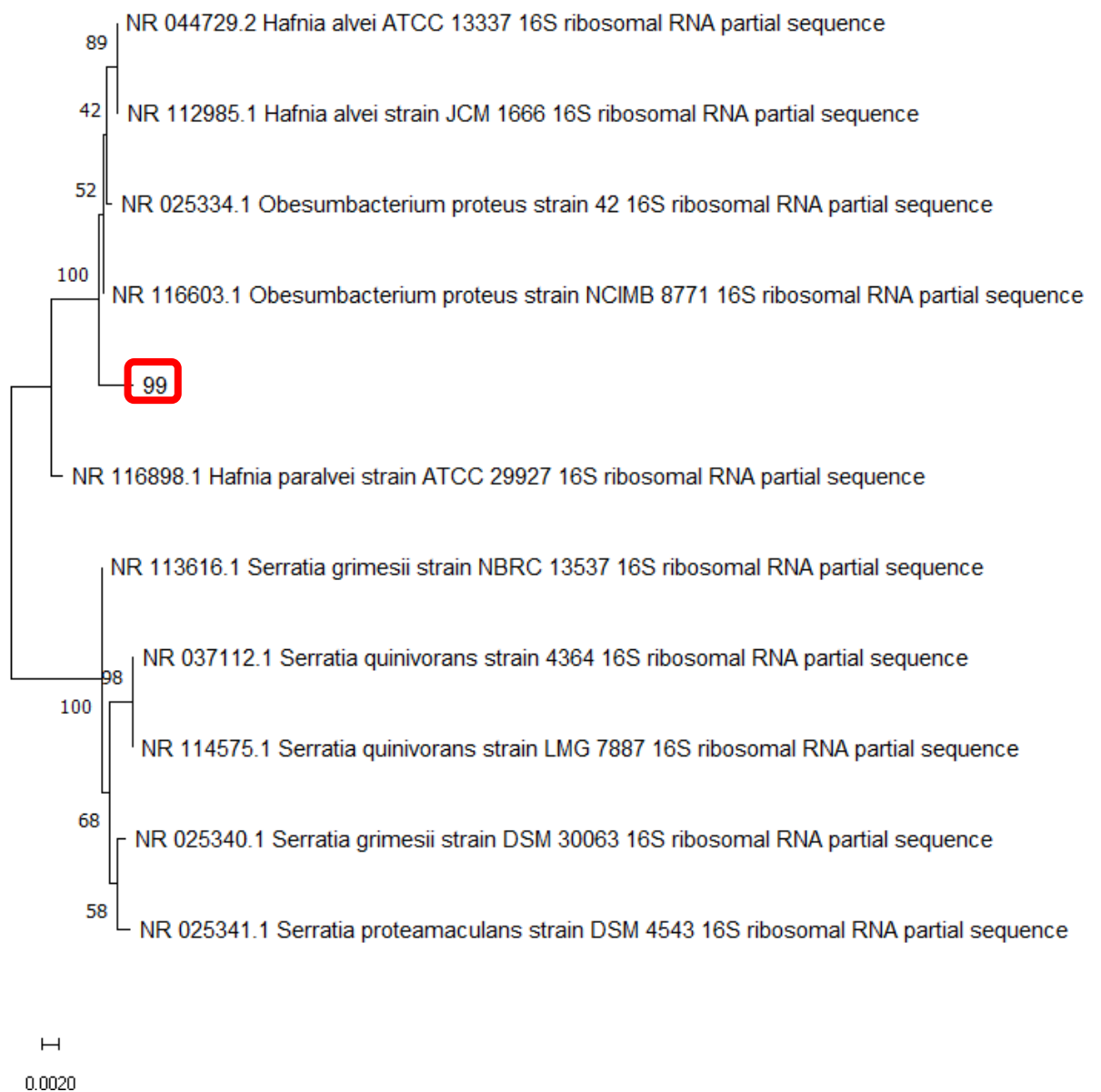
TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCG
GACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGGATAACTACTG
GAAACGGTAGCTAATACCGCATGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTC
GGGCCTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGT
AATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCA
CACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAA
TATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAG
GCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATA
ACCGCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCA
GCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGT
AAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAAC
TTGGGAACTGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGA
ATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGC
GAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGG
AGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGACCT
GGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGA
CCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGG
CCCGCACAAAGCGGTGGAAGCATGTGGTTTAATTTCGATGCAACGCGAAGAACC
TTACCTACTCTTGACTTCCAGAGAATTTGCTAGAGATGCTTTAGTGCCTTCGG
GAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCACCTCGGGTTGTGAAATGT
TGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCACGTA
ATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGG
ATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAA
TGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGT
ATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCG
CTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAC
ACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGCTTAA
CCTTCGGGAGGGCGCTACCAC

5.5. Análisis bioinformático del aislamiento 99

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
<u>Obesumbacterium proteus strain 42 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Obesumbacterium proteus</u>	100%	99.15%	1490	<u>NR_025334.1</u>
<u>Hafnia alvei strain JCM 1666 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia alvei</u>	100%	99.15%	1473	<u>NR_112985.1</u>
<u>Obesumbacterium proteus strain NCIMB 8771 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Obesumbacterium proteus</u>	100%	98.87%	1436	<u>NR_116603.1</u>
<u>Hafnia alvei ATCC 13337 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia alvei ATCC 13337</u>	100%	98.87%	1488	<u>NR_044729.2</u>
<u>Hafnia paralvei strain ATCC 29927 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia paralvei</u>	100%	98.38%	1495	<u>NR_116898.1</u>
<u>Serratia quinivorans strain 4364 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia quinivorans</u>	100%	97.46%	1508	<u>NR_037112.1</u>
<u>Serratia quinivorans strain LMG 7887 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia quinivorans</u>	100%	97.40%	1464	<u>NR_114575.1</u>
<u>Serratia proteamaculans strain DSM 4543 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia proteamaculans</u>	100%	97.32%	1502	<u>NR_025341.1</u>
<u>Serratia grimesii strain DSM 30063 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia grimesii</u>	100%	97.32%	1495	<u>NR_025340.1</u>
<u>Serratia grimesii strain NBRC 13537 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia grimesii</u>	100%	97.11%	1468	<u>NR_113616.1</u>

5.6. Análisis filogenético del aislamiento 99



6. Secuencia del aislamiento 100

6.1. Forward_100

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGGACGGGTGAG
TAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCA
TGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGG
GATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGA
TGACCAGCCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAA
TATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGT
TGTAAGTACTTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGTTACT
CGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCG
TTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCGAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCC
CGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGGTAG
AATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGC
CCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCC
TGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTGACCTGGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCG
GAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCCGGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAA
TTGACGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAACCAGGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCT
TACCTACTCTTGACATCCCGAGAATTTGCCAGAGATGCTTTAGTGCCTTCGGGACTCTGAGAC
AGTGCTGCAGGGCTGTCGTCACCTC

6.2. Reverse_100

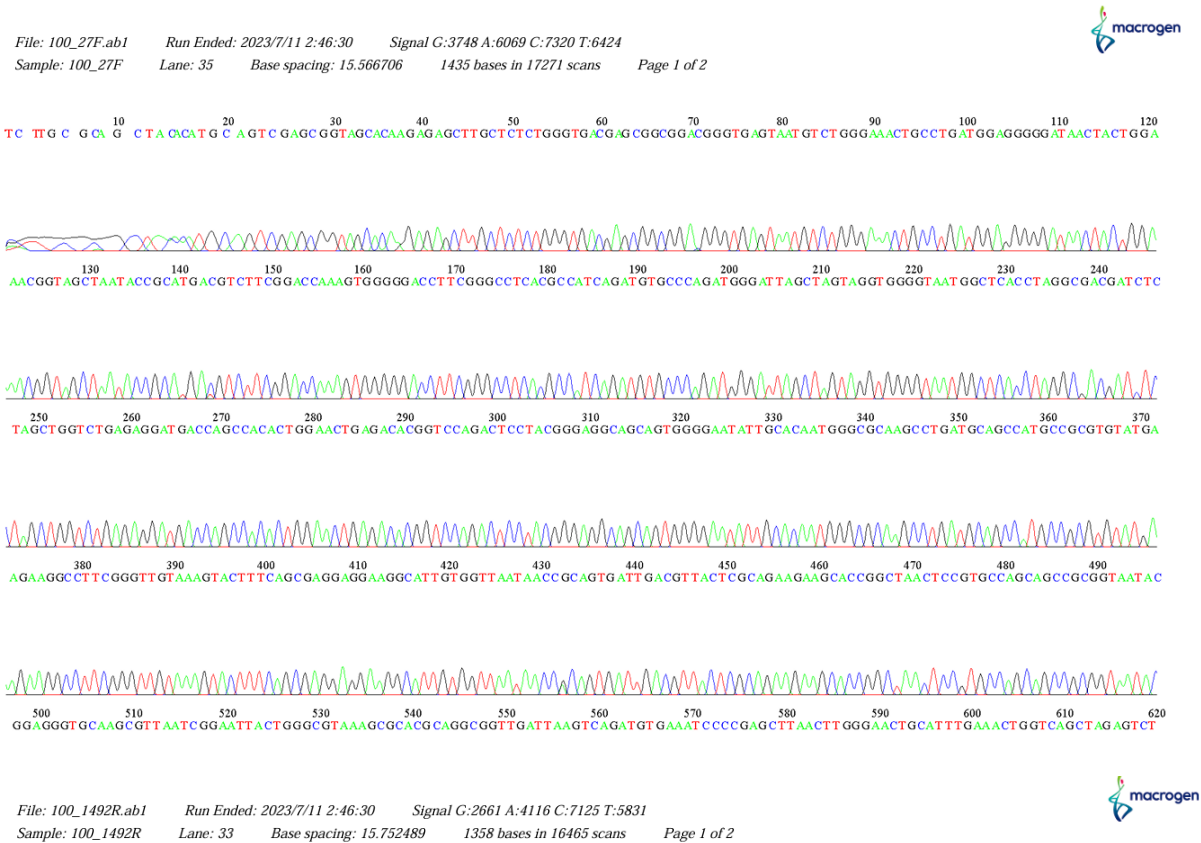
GAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACC
GCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAATTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAA
TACGGAGGGTGCCAGCGTTTATTGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCCGGCGGTTGATTA
AGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGAACTGGTCAGCTAGAGTC
TTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACC
GGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCA
AACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTGCACTTGGAGGTTGTGCCCTT
GAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGT
TAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATG
CAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTAGCAGAGATAGCTTAGTGCCT
TCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTT
AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAA
GGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTAC
GAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAG
CGGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGA
ATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGC
CCGTACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCTT
ACCACT

6.3. Consenso_100

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCG
GACGGGTGAGTAATGTCTGGGAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTG
GAAACGGTAGCTAATACCGCATGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTC
GGGCCTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGT
AATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCA
CACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAA
TATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAG
GCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATA
ACCGCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCA
GCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGT
AAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAAC
TTGGGAACTGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGGTAG
AATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGG
CGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGG
GAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGACC
TGGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCG
ACCGCCCCGGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGG
GGCCCGCACAAAGCGGTGGAACCAGGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGA
ACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTAGCAGAGATAGCTTAGTGCCTT
CGGGAAGTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAA
TGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCAC
GTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTG
GGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTA
CAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAA
AGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAA
TCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
TACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAGAAGTAGGTAGCT
TAACCTTCGGGAGGGCGCTTACCACT

6.4. Electroferograma del aislamiento 100

El aislamiento codificado como 100 fue analizado a través de secuenciamiento Sanger mediante el secuenciador automático ABI que traduce señales fluorescentes en la secuencia de bases correspondientes.

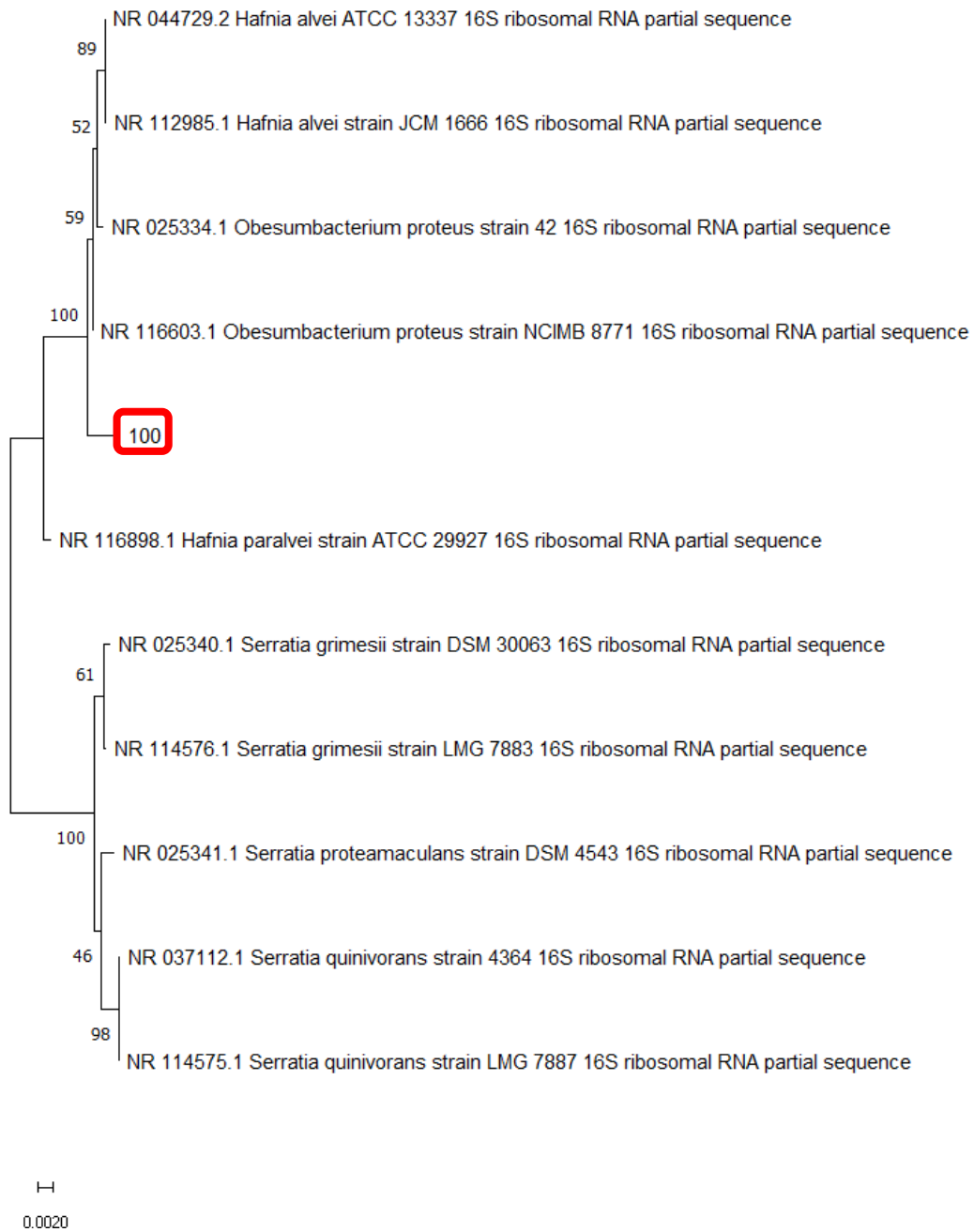


6.5. Análisis bioinformático del aislamiento 100

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
<u>Hafnia alvei strain JCM 1666 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia alvei</u>	100%	99.09%	1473	<u>NR_112985.1</u>
<u>Obesumbacterium proteus strain NCIMB 8771 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Obesumbacterium proteus</u>	100%	98.80%	1436	<u>NR_116603.1</u>
<u>Obesumbacterium proteus strain 42 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Obesumbacterium proteus</u>	100%	98.94%	1490	<u>NR_025334.1</u>
<u>Hafnia alvei ATCC 13337 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia alvei ATCC 13337</u>	100%	98.80%	1488	<u>NR_044729.2</u>
<u>Hafnia paralvei strain ATCC 29927 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia paralvei</u>	100%	98.31%	1495	<u>NR_116898.1</u>
<u>Serratia quinivorans strain 4364 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia quinivorans</u>	100%	97.40%	1508	<u>NR_037112.1</u>
<u>Serratia quinivorans strain LMG 7887 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia quinivorans</u>	100%	97.33%	1464	<u>NR_114575.1</u>
<u>Serratia proteamaculans strain DSM 4543 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia proteamaculans</u>	100%	97.26%	1502	<u>NR_025341.1</u>
<u>Serratia grimesii strain DSM 30063 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia grimesii</u>	100%	97.26%	1495	<u>NR_025340.1</u>
<u>Serratia grimesii strain LMG 7883 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia grimesii</u>	100%	97.19%	1461	<u>NR_114576.1</u>

6.6. Análisis filogenético del aislamiento 100



7. Secuencia del aislamiento 101

7.1. Forward_101

CGGATTGGCGCAGCTACACATGCAGTCGAGCGGTAGCACAAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGA
CGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGG
AAACGGTAGCTAATACCGCATGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGC
CATCAGATGTGCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGAT
CTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTAC
GGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTG
TATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAA
CCGCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGT
AATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGAT
TAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAAGTTGGGAACTGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAG
TCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATA
CCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAG
CAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGACTTGAGGTTGTGCC
TTGAGGCGTGGCTTCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAG
GTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAT
GCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTGCTAGAGATGCTTTAGTGCC
TTCGGGAA

7.2. Reverse_101

TATGGGTATAAAGACGAGTGTGGAGCTCCCTCGGAAGGGAACTACTTAGTTTTTTTGCTACC
CACTCGGTGGTGTGACGGGAGGTGTGGGGACGGCCGGGAACGTAGTCACCGTATAGTCTGA
TCTACCATTACCAGCGATTACTACTTCAAGGAAATTAGTTGAACACCCCCCTCCAGACTACCAC
ATACTTTATGAGGTCCGTTGCTCTCGCTAGTTCACTTTTTTTTGTATATGATATTGCAGCATGT
GTGTAACCCCACTCCTAAGGCCCATGATAACTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCGGGTTTATC
ACGGGCAATCTCCTTTGAGTGCCCAAACCTACATGCTGGCAACAAAGGAGAAGGGTTGCGCT
CGTTGCGGTAATTAACATCACTTCACAAAAGGAGTTGAGGACAGCAATGCACGTCCTGAGT
CATAATTCCCAAAGGAACTACCCCATCTCTCCTTCATTCTCTGGATGTAAAGAGGGAGGGAGG
TTCTTCGCGTTGCATCTAAATAAACCATGCTCCACCGGGCGTGCAGGCCCTCATATATTTA
ATTGACTATTAACCTTGGGGCCCTGCTCCTCAGGCTGGCCACTTAACGCGTTGGCTGGGGGA
AGCCGCGTCGCATTTCGCACAACCTCCTGTGACATCGTTGGAAGCGTGGAGACCAGGGTGTC
TCATCCTGTATGCTCACACGCTGTGACCTGAGCGTCAGGGTGTGTACTGGATGCCGCGTC
GCCACCGGTATTCTATATATATCTACACATTTCACTGGTGCACCTGGAAGTGCACACCCCTCT
ACAAGACTCTAGCTCACCAGTATGAGATGCAGTGCCTAAGTTTAAATCAATTATCTCACATCTG
ACTTACTCAACGCCTGCGTGCACTTTACTGCCTCTAGTTCAGATCACCGCTGTACCCCTCCGT
ATACCG

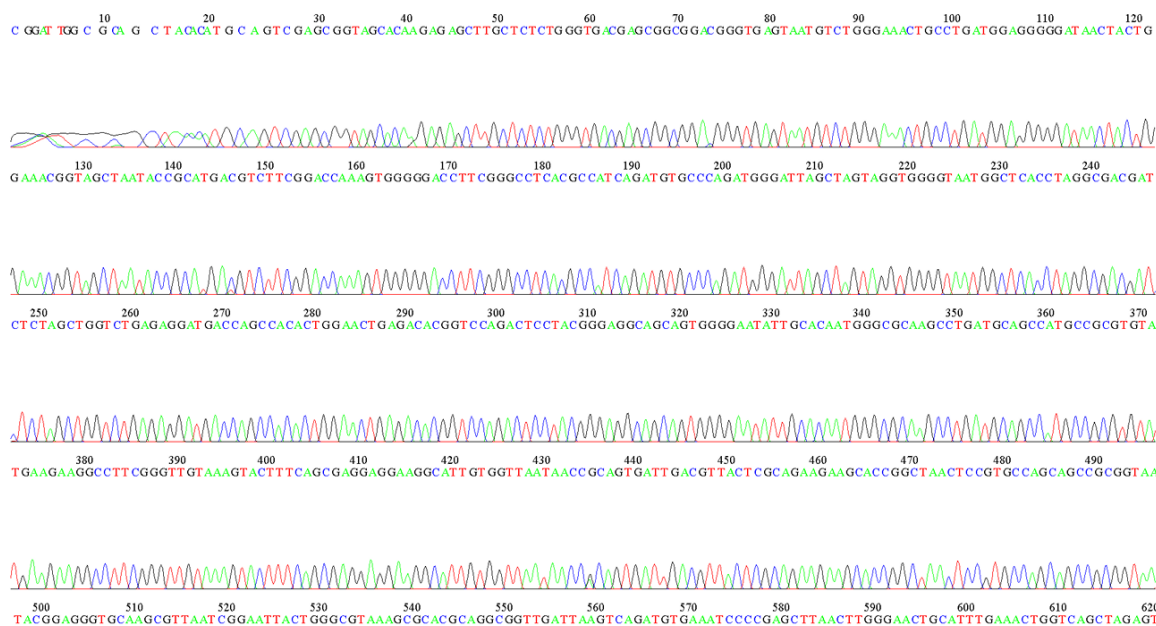
7.3. Consenso_101

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCG
GACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTG
GAAACGGTAGCTAATACCGCATGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTC
GGGCCTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGT
AATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCA
CACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAA
TATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAG
GCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATA
ACCGCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCA
GCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGT
AAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAAC
TTGGGAACTGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGA
ATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGC
GAAGGCGGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGG
AGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGACTT
GGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGAC
CGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGC
CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTT
ACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTGCTAGAGATGCTTTAGTGCCTTCGGGA
ACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTT
GGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTGTTGCCGCACGTAATG
GTGGGAACTCCAAGGAGACTGCCGTGATAACC

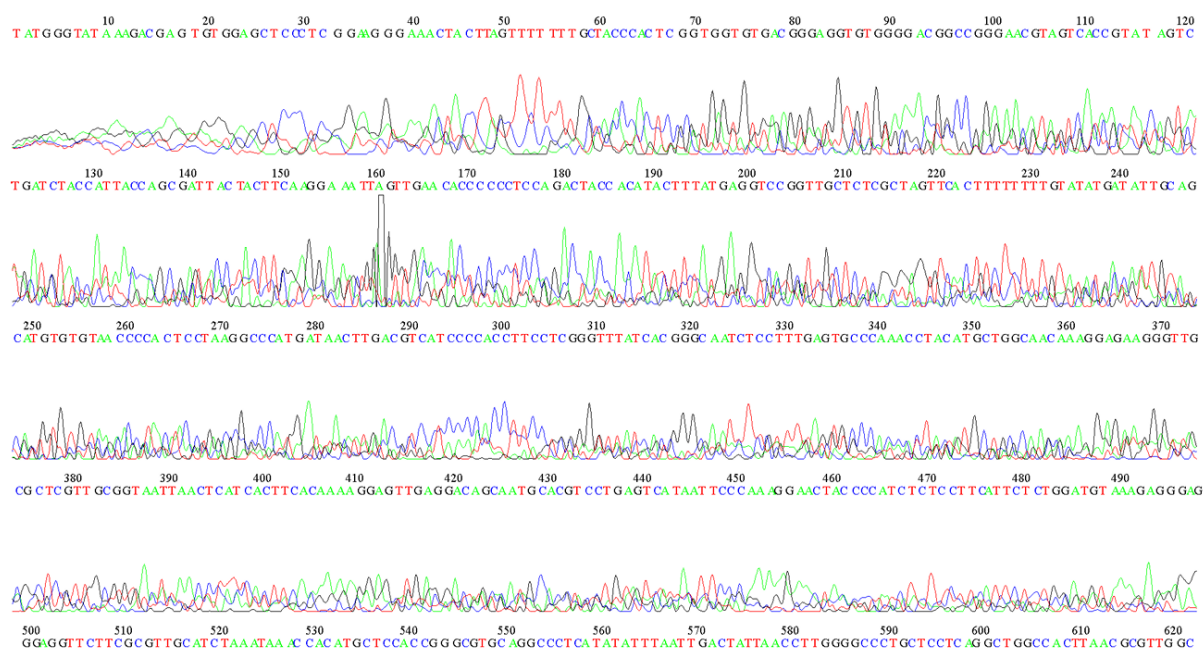
7.4. Electroferograma del aislamiento 101

El aislamiento codificado como 101 fue analizado a través de secuenciamiento Sanger mediante el secuenciador automático ABI que traduce señales fluorescentes en la secuencia de bases correspondientes.

File: 101_27F.ab1 Run Ended: 2023/7/11 2:46:30 Signal G:2654 A:4205 C:5043 T:4175
Sample: 101_27F Lane: 48 Base spacing: 15.602644 1389 bases in 16668 scans Page 1 of 2



File: 101_1492R.ab1 Run Ended: 2023/7/11 2:46:30 Signal G:148 A:178 C:276 T:209
Sample: 101_1492R Lane: 46 Base spacing: 15.628204 1243 bases in 16303 scans Page 1 of 2

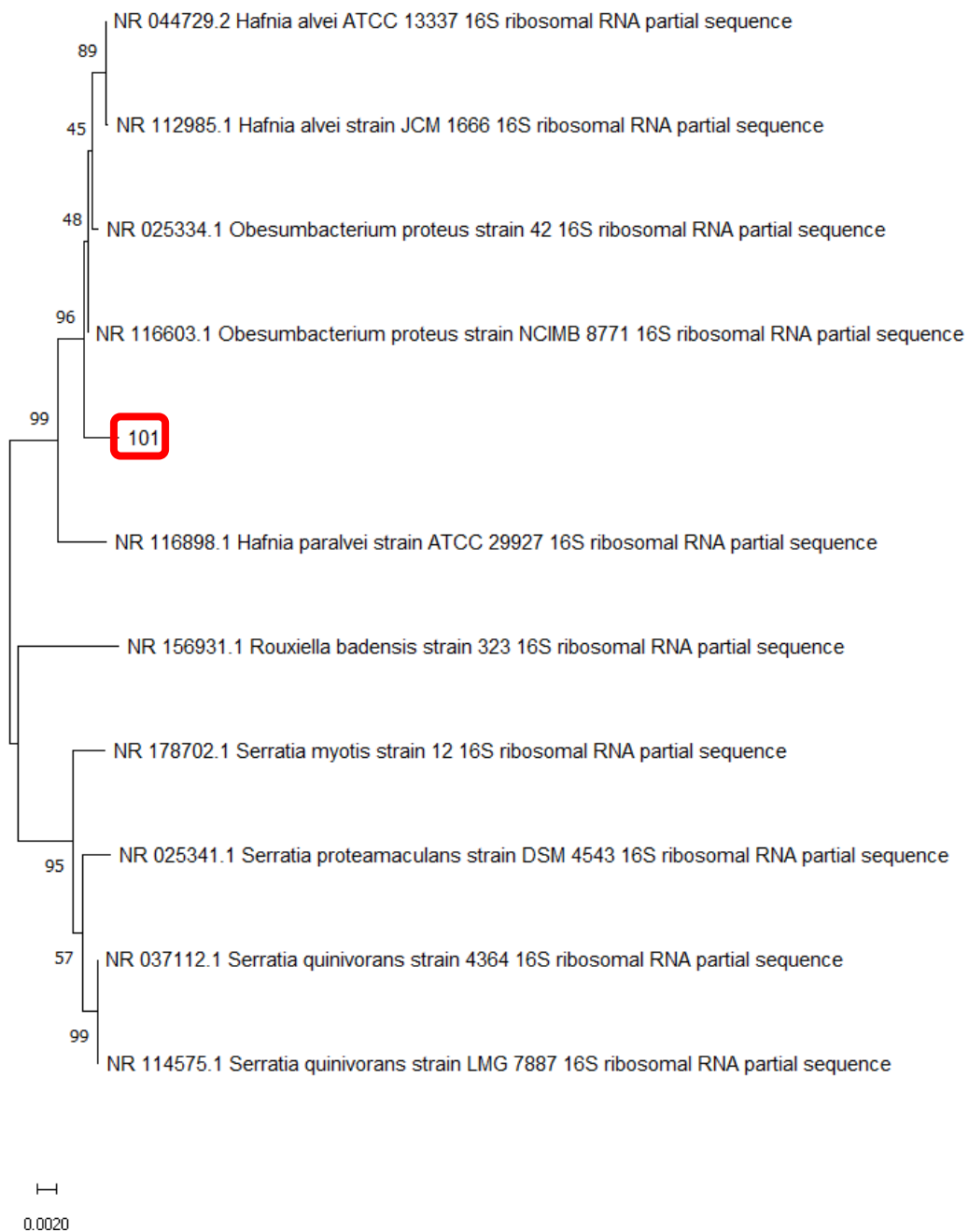


7.5. Análisis bioinformático del aislamiento 101

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
Obesumbacterium proteus strain 42 16S ribosomal RNA, partial sequence	Obesumbacterium proteus	100%	99.10%	1490	NR_025334.1
Hafnia alvei strain JCM 1666 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia alvei	100%	99.11%	1473	NR_112985.1
Obesumbacterium proteus strain NCIMB 8771 16S ribosomal RNA, partial sequence	Obesumbacterium proteus	100%	98.75%	1436	NR_116603.1
Hafnia alvei ATCC 13337 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia alvei ATCC 13337	100%	98.75%	1488	NR_044729.2
Hafnia paralvei strain ATCC 29927 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia paralvei	100%	98.12%	1495	NR_116898.1
Serratia quinivorans strain 4364 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia quinivorans	100%	97.41%	1508	NR_037112.1
Serratia quinivorans strain LMG 7887 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia quinivorans	100%	97.32%	1464	NR_114575.1
Rouxiella badensis strain 323 16S ribosomal RNA, partial sequence	Rouxiella badensis	99%	97.48%	1281	NR_156931.1
Serratia proteamaculans strain DSM 4543 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia proteamaculans	100%	97.23%	1502	NR_025341.1
Serratia myotis strain 12 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia myotis	100%	97.23%	1426	NR_178702.1

7.6. Análisis filogenético del aislamiento 101



8. Secuencia del aislamiento 102

8.1. Forward_102

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAGGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGGACGGGTGA
GTAATGTCTGGGAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGC
ATGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATG
GGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGG
ATGACCAGCCACACTGGAAGTGGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGA
ATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGG
TTGTAAAGTACTTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGTTAC
TCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGC
GTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCC
CCGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAG
AATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGC
CCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCC
TGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTGACCTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGG
AGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATT
GACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTA
CCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTGCTAGAGATGCTTTAGTGCCTTCGGGACTCTGAGACAG
GTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCG
CAACCCTTATCCTTGT

8.2. Reverse_102

CCCTGCCGCGTGTTGAAGAAGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTCAGCGAGGAGGAGGGCATT
GTGGTTAATAACCACAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAATTCCGTGCCAG
CAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCCAGCGTTAATTGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCC
GGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGAACTGG
TCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATC
TGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAG
CGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTGCACTTGGA
GGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTA
CGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTG
GTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTAGCAGAGAT
AGCTTAGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTG
AAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGT
GGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCAT
CATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAACT
CGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACT
CCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGC

CTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGCTTAACCTT
CGGGAGGGCGCT

8.3. Consenso_102

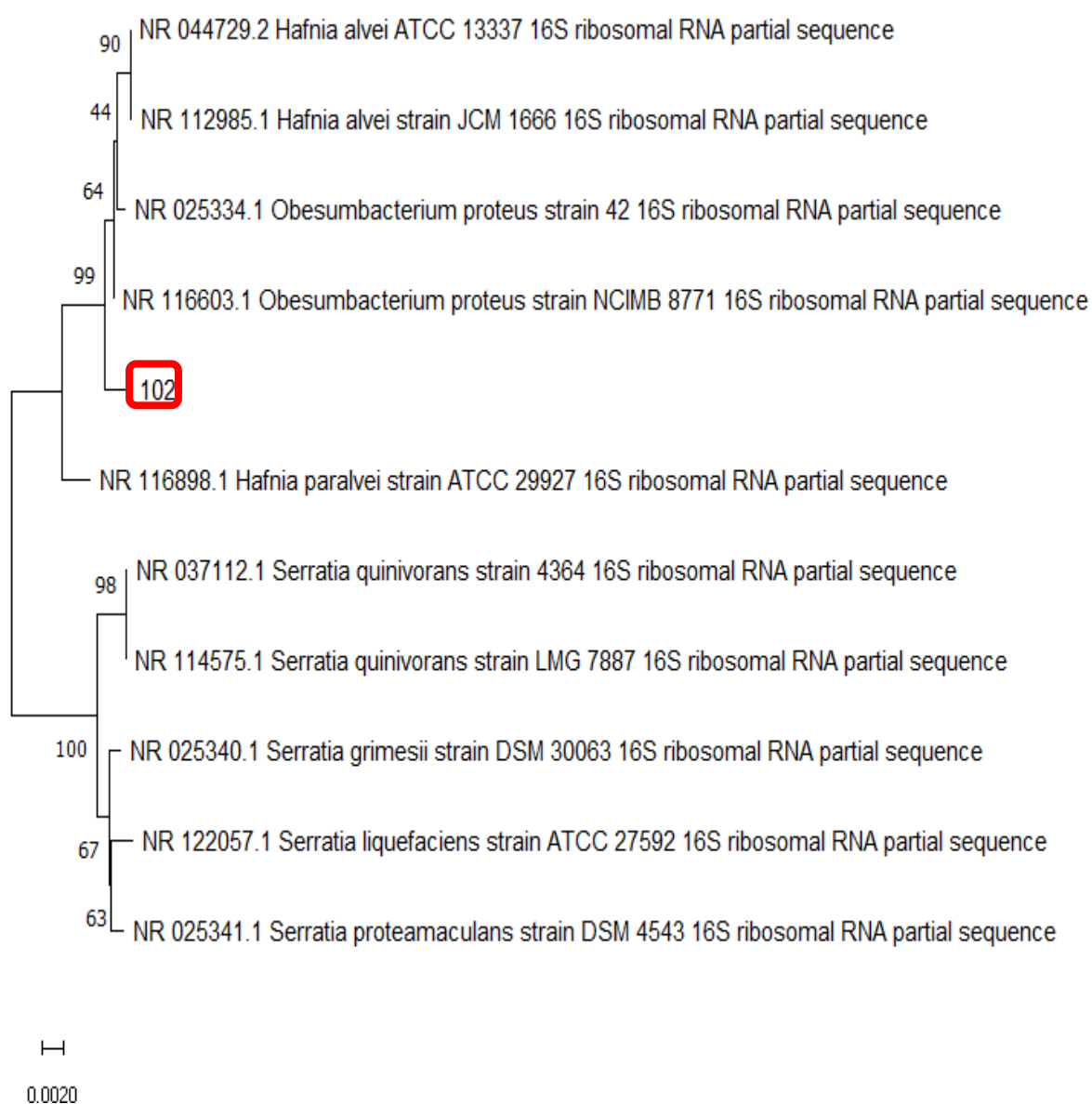
TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAAGGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGC
GGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACT
GGAAACGGTAGCTAATACCGCATGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTT
CGGGCCTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGG
TAATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCC
ACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGA
ATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAA
GGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAAT
AACCGCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCC
AGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCG
TAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAA
CTTGGGAACTGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAG
AATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGG
CGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGG
GAGCAAACAGGATTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTGACC
TGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGA
CCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGG
CCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCT
TACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTGCTAGAGATGCTTTAGTGCCTTCGGG
AACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTT
TGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCACGTA
ATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGG
ATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAA
TGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGT
ATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCG
CTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAC
ACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGCTTAA
CCTTCGGGAGGGCGCT

8.5. Análisis bioinformático del aislamiento 102

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
Obesumbacterium proteus strain 42 16S ribosomal RNA, partial sequence	Obesumbacterium proteus	100%	99.43%	1490	NR_025334.1
Hafnia alvei strain JCM 1666 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia alvei	100%	99.43%	1473	NR_112985.1
Obesumbacterium proteus strain NCIMB 8771 16S ribosomal RNA, partial sequence	Obesumbacterium proteus	100%	99.15%	1436	NR_116603.1
Hafnia alvei ATCC 13337 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia alvei ATCC 13337	100%	99.15%	1488	NR_044729.2
Hafnia paralvei strain ATCC 29927 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia paralvei	100%	98.65%	1495	NR_116898.1
Serratia quinivorans strain 4364 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia quinivorans	100%	97.81%	1508	NR_037112.1
Serratia quinivorans strain LMG 7887 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia quinivorans	100%	97.74%	1464	NR_114575.1
Serratia proteamaculans strain DSM 4543 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia proteamaculans	100%	97.67%	1502	NR_025341.1
Serratia grimesii strain DSM 30063 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia grimesii	100%	97.67%	1495	NR_025340.1
Serratia liquefaciens strain ATCC 27592 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia liquefaciens	100%	97.60%	1544	NR_122057.1

8.6. Análisis filogenético del aislamiento 102



9. Secuencia del aislamiento 103

9.1. Forward_103

GTCGAGCGGTAGCACAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGT
CTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATGACGTCT
TCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAG
TAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACA
CTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGG
CGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTTCAG
CGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCACAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGG
CTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCG
TAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGAAGTGC
TTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATG
CGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGG
TGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGA
CCTGGGAAGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGG
GGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCGACACAAGCGGTGGAACCA
GGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACTTCCCGAGAATTTGGCAGA
GATGCTTTAGTGCCTTCGGGACTCTGAGACAGTGCTGCAGGGCTGT

9.2. Reverse_103

CCAGATTCTACGGGGAGGCAGCATTGGGAATATTGCACAAGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCCTG
CCGCGTGTTTGAAGAAGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTA
ATAACCGCAGTGATTGACGTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAATTCCGTGCCAGCAGCCGCGG
TAATACGGAGGGTGCCAGCGTTTATTGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCCGCGGCGTTGATT
AAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGAAGTGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCT
TGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGT
GGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAG
GATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTGCACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGT
GGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAA
ATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAA
CCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTAGTAGAGATAGTTTAGTGCCTTCGGGAAGTCTGAGA
CAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCG
CAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAAGTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAAC
CGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTA
CAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAAGTCCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTATGTGCTAGT
CCGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGC
TACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAA
AGAAGTAGGTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCT

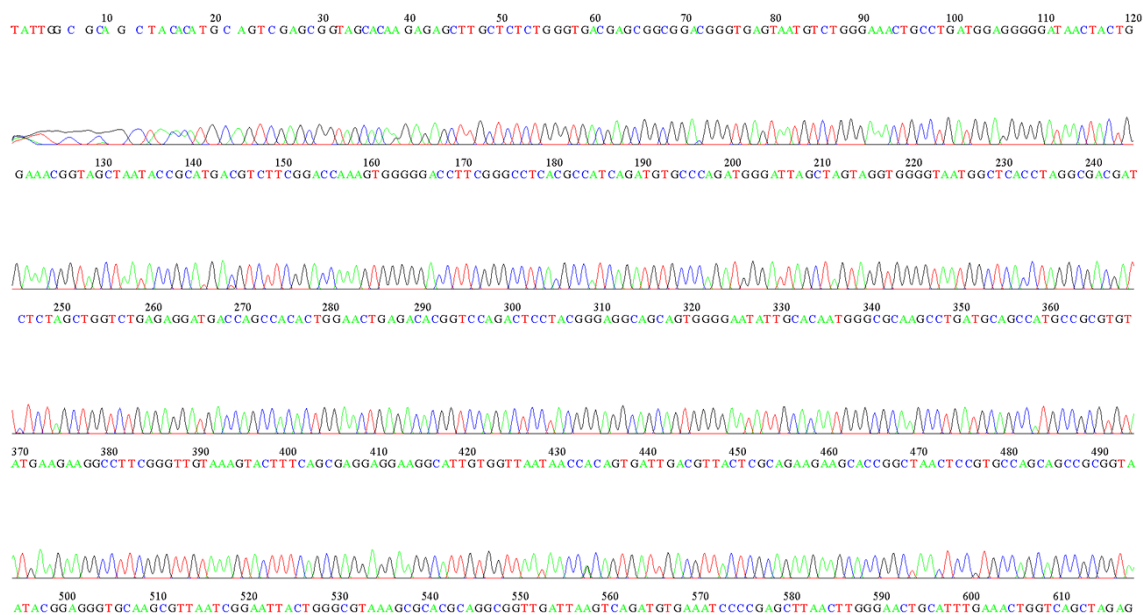
9.3. Consenso_103

GTCTGAGCGGTAGCACAAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGGACGG
GTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGG
TAGCTAATACCGCATGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCA
CGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCAC
CTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAGT
AGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGG
GCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTA
AAGTACTTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCACAGTGATTGACG
TACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACG
GAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTT
GATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGAACT
GGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAA
TGCGTAGAGATCTGGAGGAATAACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAG
ACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGT
AGTCCACGCTGTAAACGATGTGACCTGGGAAGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGC
TTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGGAGTACGGCCGCAAGGTT
AAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAACCAGGTGGTTT
AATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTAGTA
GAGATAGTTTAGTGCCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTC
AGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCC
TTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACC
GGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTAC
ACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGCGG
ACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAA
GTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGG
CCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGT
AGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCT

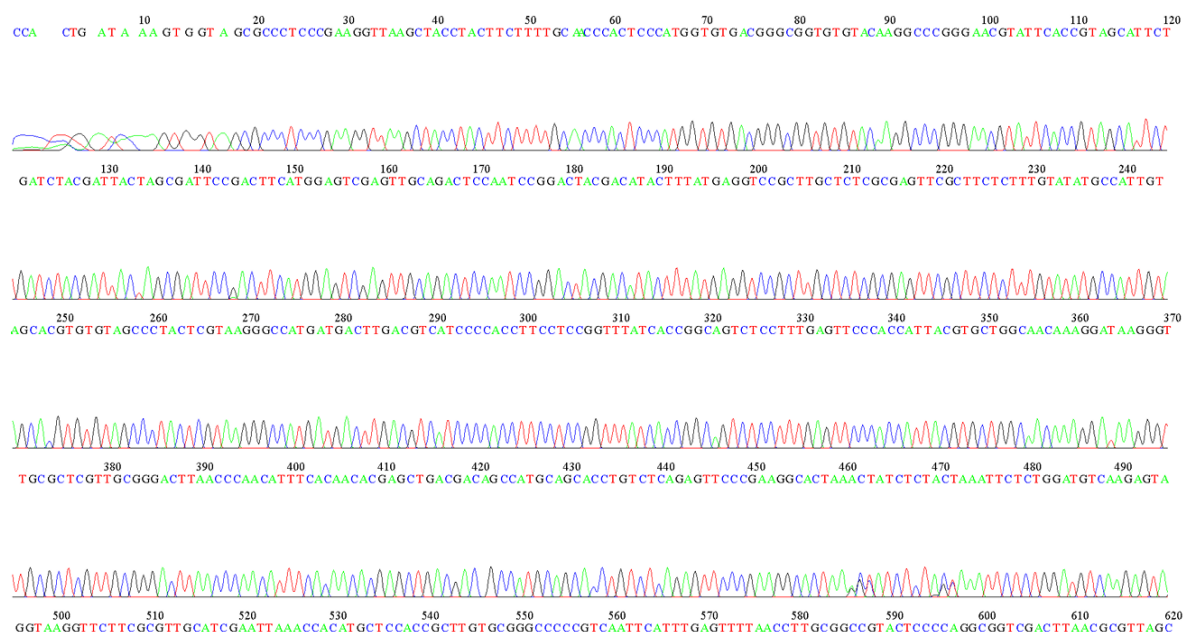
9.4. Electroferograma del aislamiento 103

El aislamiento codificado como 103 fue analizado a través de secuenciamiento Sanger mediante el secuenciador automático ABI que traduce señales fluorescentes en la secuencia de bases correspondientes.

File: 103_27F.ab1 Run Ended: 2023/7/11 2:46:30 Signal G:2987 A:5581 C:6901 T:5654
Sample: 103_27F Lane: 40 Base spacing: 15.463861 1444 bases in 17289 scans Page 1 of 2



File: 103_1492R.ab1 Run Ended: 2023/7/11 2:46:30 Signal G:2328 A:3489 C:6478 T:5394
Sample: 103_1492R Lane: 38 Base spacing: 15.497835 1460 bases in 17530 scans Page 1 of 2

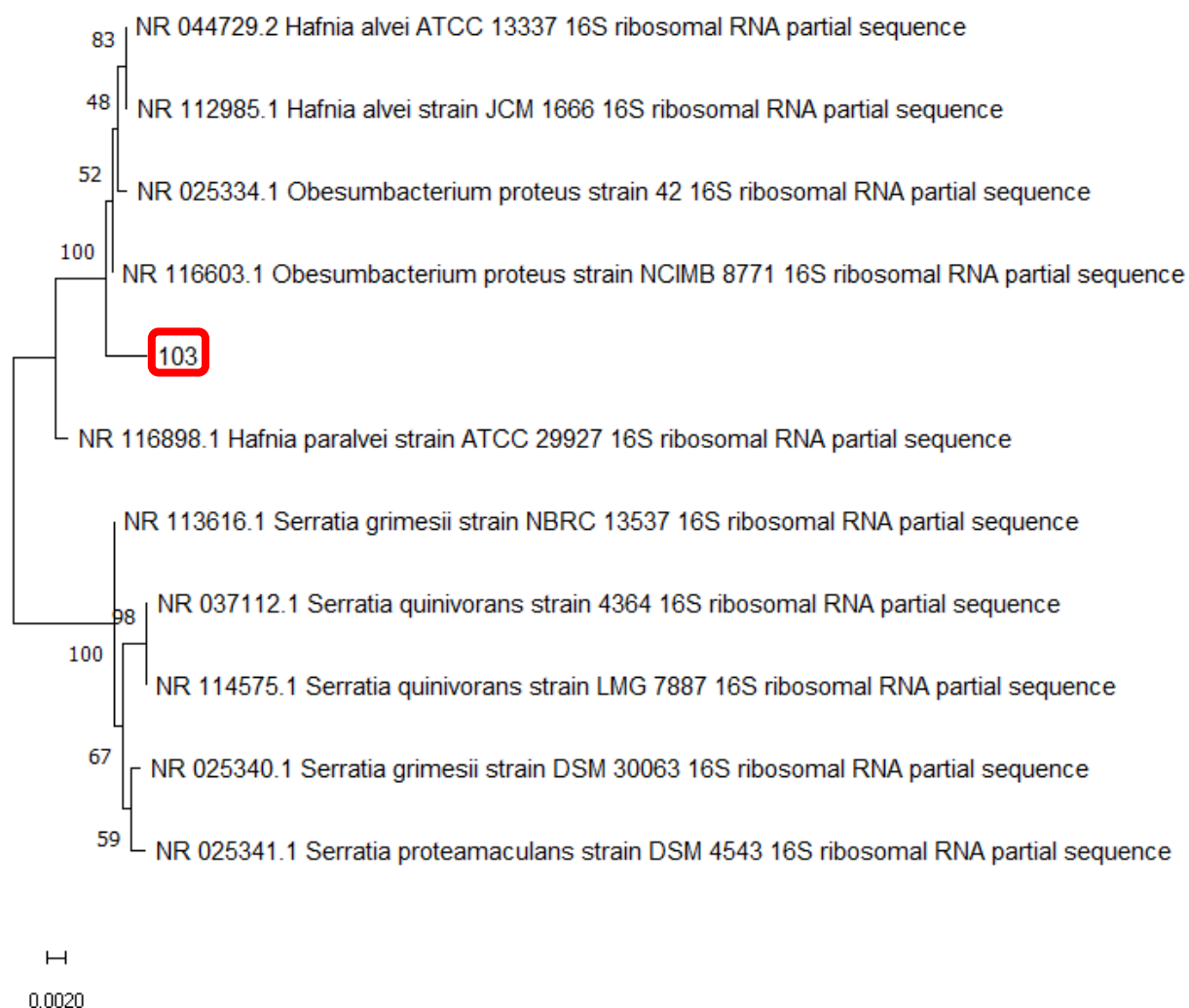


9.5. Análisis bioinformático del aislamiento 103

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
Hafnia alvei strain JCM 1666 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia alvei	100%	99.15%	1473	NR_112985.1
Obesumbacterium proteus strain NCIMB 8771 16S ribosomal RNA, partial sequence	Obesumbacterium proteus	100%	98.86%	1436	NR_116603.1
Hafnia alvei ATCC 13337 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia alvei ATCC 13337	100%	98.86%	1488	NR_044729.2
Obesumbacterium proteus strain 42 16S ribosomal RNA, partial sequence	Obesumbacterium proteus	100%	98.93%	1490	NR_025334.1
Hafnia paralvei strain ATCC 29927 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia paralvei	100%	98.30%	1495	NR_116898.1
Serratia quinivorans strain 4364 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia quinivorans	100%	97.45%	1508	NR_037112.1
Serratia quinivorans strain LMG 7887 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia quinivorans	100%	97.38%	1464	NR_114575.1
Serratia proteamaculans strain DSM 4543 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia proteamaculans	100%	97.30%	1502	NR_025341.1
Serratia grimesii strain DSM 30063 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia grimesii	100%	97.30%	1495	NR_025340.1
Serratia grimesii strain NBRC 13537 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia grimesii	100%	97.09%	1468	NR_113616.1

9.6. Análisis filogenético del aislamiento 103



10. Secuencia del aislamiento 133

10.1. Forward_133

CAGGGGCGGCAGCTACACATGCAGTCGAGCGGTAACAGGAAGAGAAGCTTGCTTTCTTTGCTGA
CGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTGGGAAATTGCCCTGATGTGGGGGATAACCATTGGAA
ACGATGGCTAATACCGCATGATGCCTACGGGCCAAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCTCACGTCA
GGATATGCCCAGGTGGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAG
CTGGTCTGAGAGGATGATCACCCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCACACTCCTACGGGAGGCA
CCACTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCACCCATGCCGCGTGTATGAATAACG
CCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTTCATTCGTGAGGAATGGGGTATCGTTAATAGCGGTATTCTTTGAC
GTTGGCGACTGAAAAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAACCGCGGTGATACCGAGGGTGCG
AGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCATGCAGGTGGTTTGTAAAGTCATATGTGAAAGC
CCGGGACTCAACCTCGGAGTTGCATTTGAAACTGGCAGGCTAGAGTACTGTAGAGGGGGGTAGA
ATTTAGGTGTAGCGATGAAATGCGTAGAGATCTGAAGGAATACCGGTGGCGAAAAGCGGCCCC
CTGGAACAGATACTGACACTCAAGATGCGAAAGCGTGAGGAGCAAAACAGGATTAGATACACCT
GGGTAGTCCACGCCTGTGAAACGATGTCTACTTTGGGAGGTTGTGGACCTTGGAGCCGTGTGCT
TCTCTGGAGCCTAACGGCGTTTAAGTAACACCGCCCTGGGGGAGTAACGGTCCGCGAGGATTAA
AAACTCCACATGGAATTTGAACCGCGAGCCCCGCTTCGAAGCGGGTGGCAGCCATGTGGGTTGT
AATTTCCAATGTCAACGTCGAAAGAAACCTTTACCCTAC

10.2. Reverse_133

CCACTGACACAAGTGGCAGCGTCCTCCCGAAGGTTAACTATCACTGCTTCTTTTGCAGCCCACT
CCCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGTGGCATTCTGATCCA
CGATTACTAGCGATTCCGACTTCATGGAGTCGAGTTGCAGACTCCAATCCGGAACGACGCACT
TTTTGGGATTGCTCACTATCGCTAGCTCGCCGCCCTCTGTATGCGCCATTGTAGCACGTGTGTA
GCCCTACTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCGTCCCCACCTTCCTCCGTTTTATCACCGGCA
GTCTCCCTGGAGTTCCCGACATTACTCGCTGGCAAACAAGGATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGG
ACTTAACCCAACATTTACAACACGAGCTGACGACAGCCATGCAGCACCTGTCTTACAGTTCCCG
AAGGCACTCCCGCGTCTCCGCAGGATCCTGTAGATGTCAAGAGTAGGTAAGGTTCTTCGCGTTG
CATCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCATTTGAGTTTTAATCT
TGCGACCGTACTCCCCAGGCGGTCTACTTAACGCGTTAGCTCCGAAAGCCACGGCTCAAGGCCA
CAACCTCCAAGTAGACATCGTTTACAGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCA
CGCTTTTCGCATCTGAGTGTGAGTATCTGTCCAGGGGGCCGCTTCGCCACCGGTATTCCTTCAG
ATCTCTACGCATTTACCGCTACACCTGAAATTCTACCCCCCTCTACAGTACTCTAGCCTGCCAGT
TTCAAATGCAACTCCGAGGTTGAGCCCCGGGCTTTACATCTGACTTAACAAACCACCTGCATGC
GCTTTACGCCAGTAATTCCGATTAACGCTCGCACCTCCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGG
AGTTAGCCGGTGCTTCTTCTGTCGCTAAC

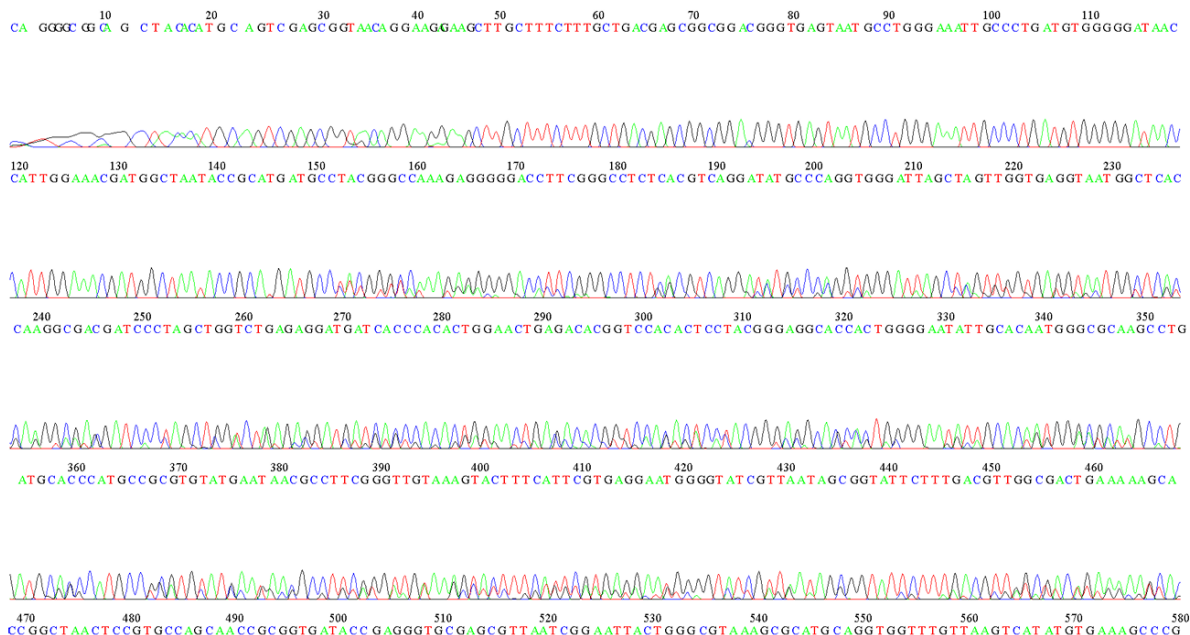
10.3. Consenso_133

GATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTTGGGTTGTAAAGTACTTTCA
GTCGTGAGGAAGGGGGTATCGTTAATAGCGGTATTCTTTGACGTTAGCGACAGA
AGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCGA
GCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCATGCAGGTGGTTTGTAAAGTCAG
ATGTGAAAGCCCCGGGGCTCAACCTCGGAGTTGCATTTGAACTGGCAGGCTAG
AGTACTGTAGAGGGGGGTAGAATTTAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGAT
CTGAAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAGATACTGACACTCAG
ATGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGT
AAACGATGTCTACTTGGAGGTTGTGGCCTTGAGCCGTGGCTTTCGGAGCTAACG
CGTTAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTAAAACTCAAATGAATT
GACGGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGA
AGAACCTTACCTACTCTTGACATCTACAGGATCCTGCGGAGACGCGGGAGTGC
CTTCGGGAAGTGTAAAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAA
ATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTGTTTGCCAGCGAG
TAATGTCGGGAAGTCCAGGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGG
GACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAAT
GGCGCATACAGAGGGCGGCGAGCTAGCGATAGTGAGCGAATCCCCAAAAGTGC
GTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAG
TAATCGTGGATCAGAATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCG
CCCGTCACACCATGGGAGTGGGCTGCAAAGAAGCAGTGATAGTTTAACCTTCG
GGAGGACGCTGCCAC

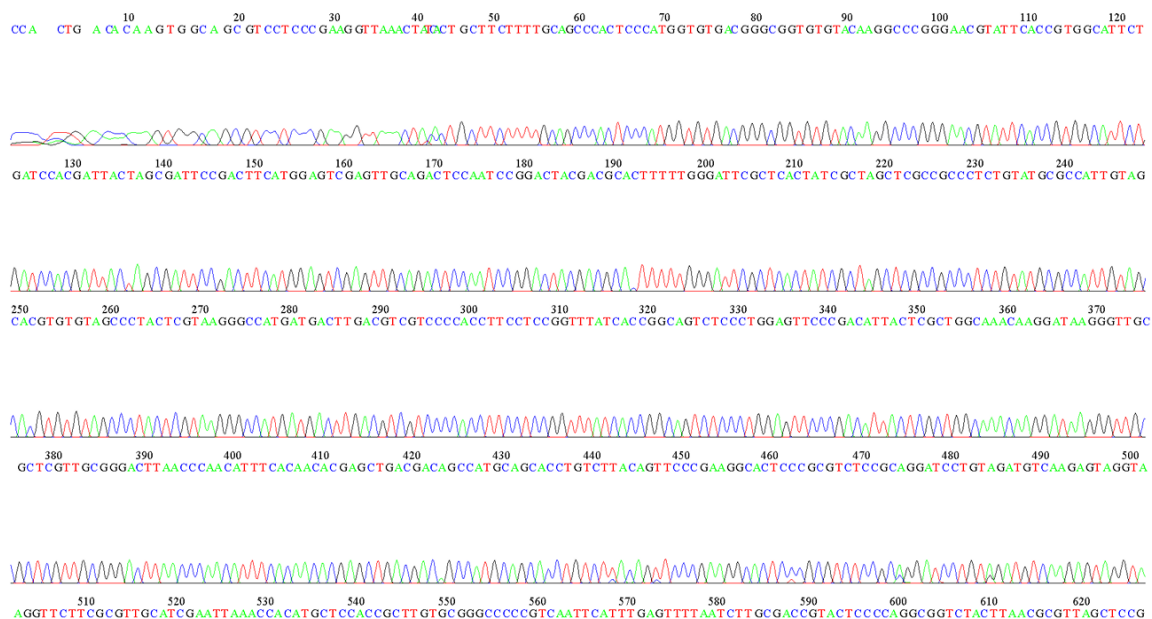
10.4. Electroferogramas del aislamiento 133

El aislamiento codificado como 133 fue analizado a través de secuenciamiento Sanger mediante el secuenciador automático ABI que traduce señales fluorescentes en la secuencia de bases correspondientes.

File: 133_27F.ab1 Run Ended: 2023/7/11 2:46:30 Signal G:3450 A:4824 C:5235 T:4407
Sample: 133_27F Lane: 36 Base spacing: 15.551401 1623 bases in 21389 scans Page 1 of 2



File: 133_1492R.ab1 Run Ended: 2023/7/11 2:46:30 Signal G:2603 A:3354 C:5735 T:4226
Sample: 133_1492R Lane: 34 Base spacing: 15.723343 1376 bases in 16425 scans Page 1 of 2

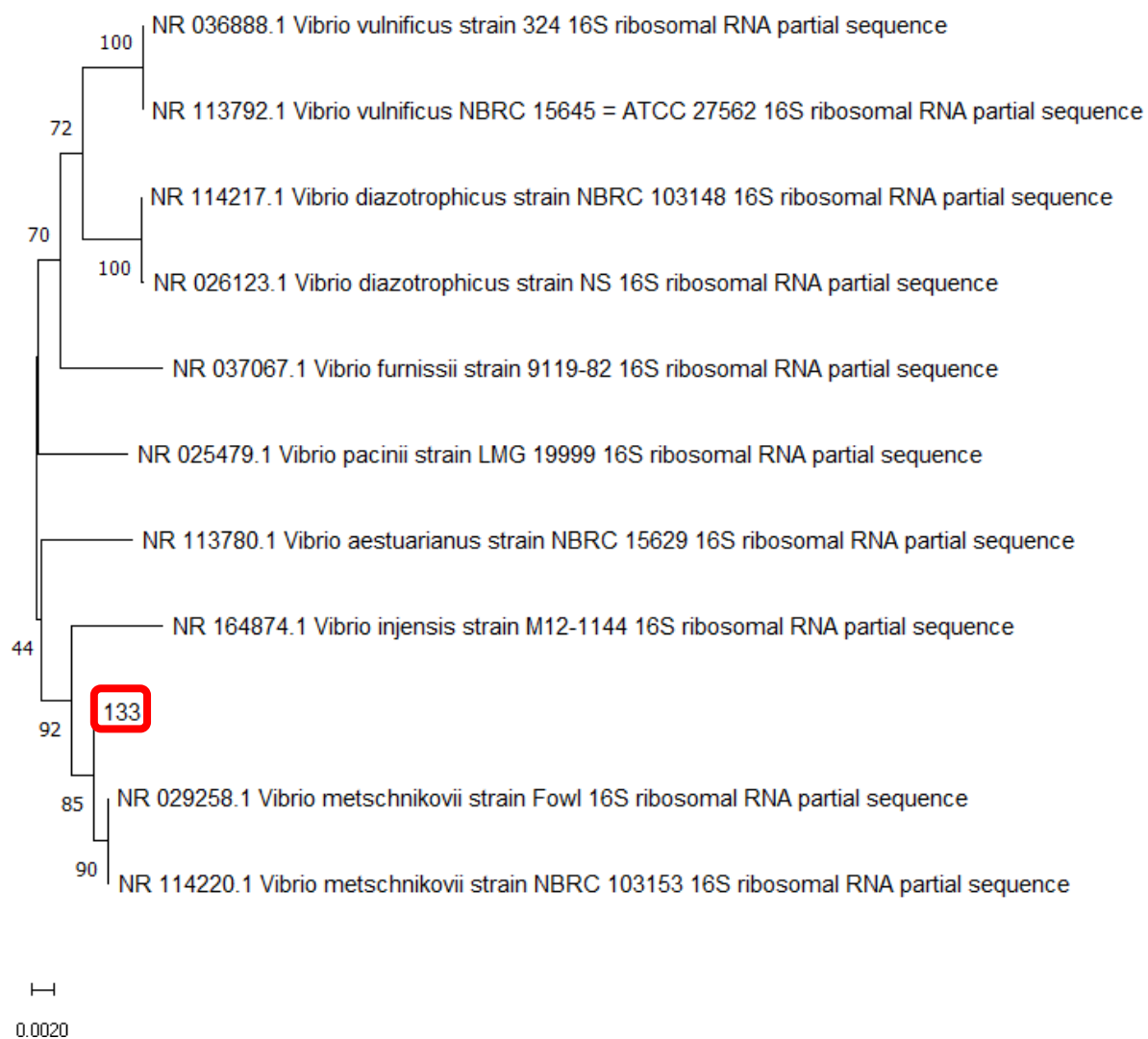


10.5. Análisis bioinformático del aislamiento 133

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
<u>Vibrio metschnikovii strain NBRC 103153 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Vibrio metschnikovii</u>	100%	99.63%	1486	<u>NR_114220.1</u>
<u>Vibrio metschnikovii strain Fowl 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Vibrio metschnikovii</u>	95%	99.81%	1433	<u>NR_029258.1</u>
<u>Vibrio injensis strain M12-1144 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Vibrio injensis</u>	100%	97.88%	1428	<u>NR_164874.1</u>
<u>Vibrio pacinii strain LMG 19999 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Vibrio pacinii</u>	100%	97.78%	1494	<u>NR_025479.1</u>
<u>Vibrio diazotrophicus strain NBRC 103148 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Vibrio diazotrophicus</u>	100%	97.60%	1468	<u>NR_114217.1</u>
<u>Vibrio aestuarianus strain NBRC 15629 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Vibrio aestuarianus</u>	100%	97.59%	1472	<u>NR_113780.1</u>
<u>Vibrio diazotrophicus strain NS 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Vibrio diazotrophicus</u>	99%	97.59%	1456	<u>NR_026123.1</u>
<u>Vibrio furnissii strain 9119-82 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Vibrio furnissii</u>	100%	97.24%	1546	<u>NR_037067.1</u>
<u>Vibrio vulnificus strain 324 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Vibrio vulnificus</u>	100%	97.31%	1536	<u>NR_036888.1</u>
<u>Vibrio vulnificus NBRC 15645 = ATCC 27562 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Vibrio vulnificus NBRC 15645 = ATCC 27562</u>	100%	97.31%	1468	<u>NR_113792.1</u>

10.6. Análisis filogenético del aislamiento 133



11. Secuencia del aislamiento 134

11.1. Forward_134

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGGACGGGTGAGTA
ATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATGAC
GTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAG
CTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGC
CACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAAT
GGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTT
CAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCAC
CGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGG
GCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAAC
TGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAA
ATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTC
AGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGT
CGACTTGAGAGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGG
GGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCA
TGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTGCTAGAG
ATGCTTTAGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGA
AAGGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCTTATCCTTGTTGCCGCACGTAAGGGTGG

11.2. Reverse_134

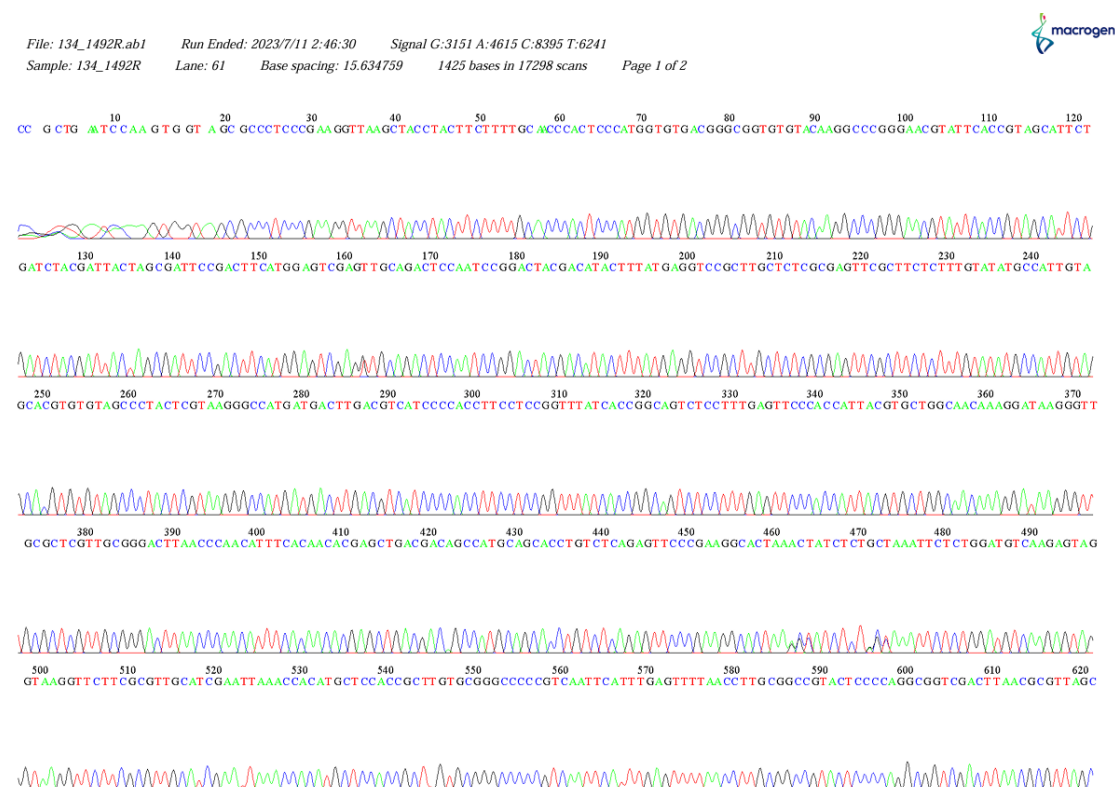
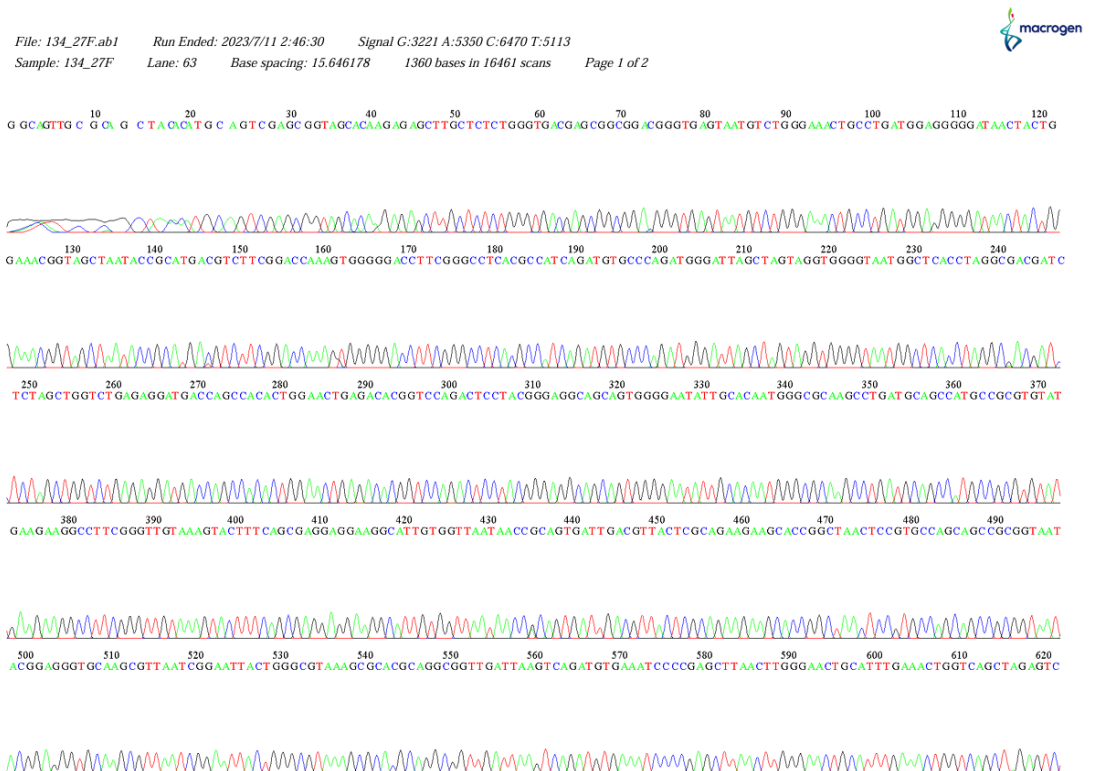
GAAGAAGCCTTTTCGGGTTGTAAAGTACTTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCACA
GTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAATTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGG
AGGGTGCAAGCGTTTATTGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCCGCGGTTGATTAAGTCAGA
TGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGG
GGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAG
GCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT
ACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGACTTGAGAGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCC
GGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATT
GACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACC
TACTCTTGACATCCAGAGAATTTAGCAGAGATAGTTTAGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTG
CTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCC
TTATCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAG
GAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATG
GCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGG
ATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACG
GTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAA
GTAGGTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCT

11.3. Consenso_134

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGG
ACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAA
ACGGTAGCTAATACCGCATGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGC
CTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGC
TCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGA
ACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACA
ATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGT
TGTAAGTACTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATT
GACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAA
TACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGC
GGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGA
AACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTG
AAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATAACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAA
AGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTG
GTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGG
CTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTT
AAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTA
ATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTGCTAG
AGATGCTTTAGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCA
GCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCT
TTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACC
GGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTAC
ACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGCGG
ACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAA
GTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGG
CCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGT
AGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCT

11.4. Electroferograma del aislamiento 134

El aislamiento codificado como 134 fue analizado a través de secuenciamiento Sanger mediante el secuenciador automático ABI que traduce señales fluorescentes en la secuencia de bases correspondientes.

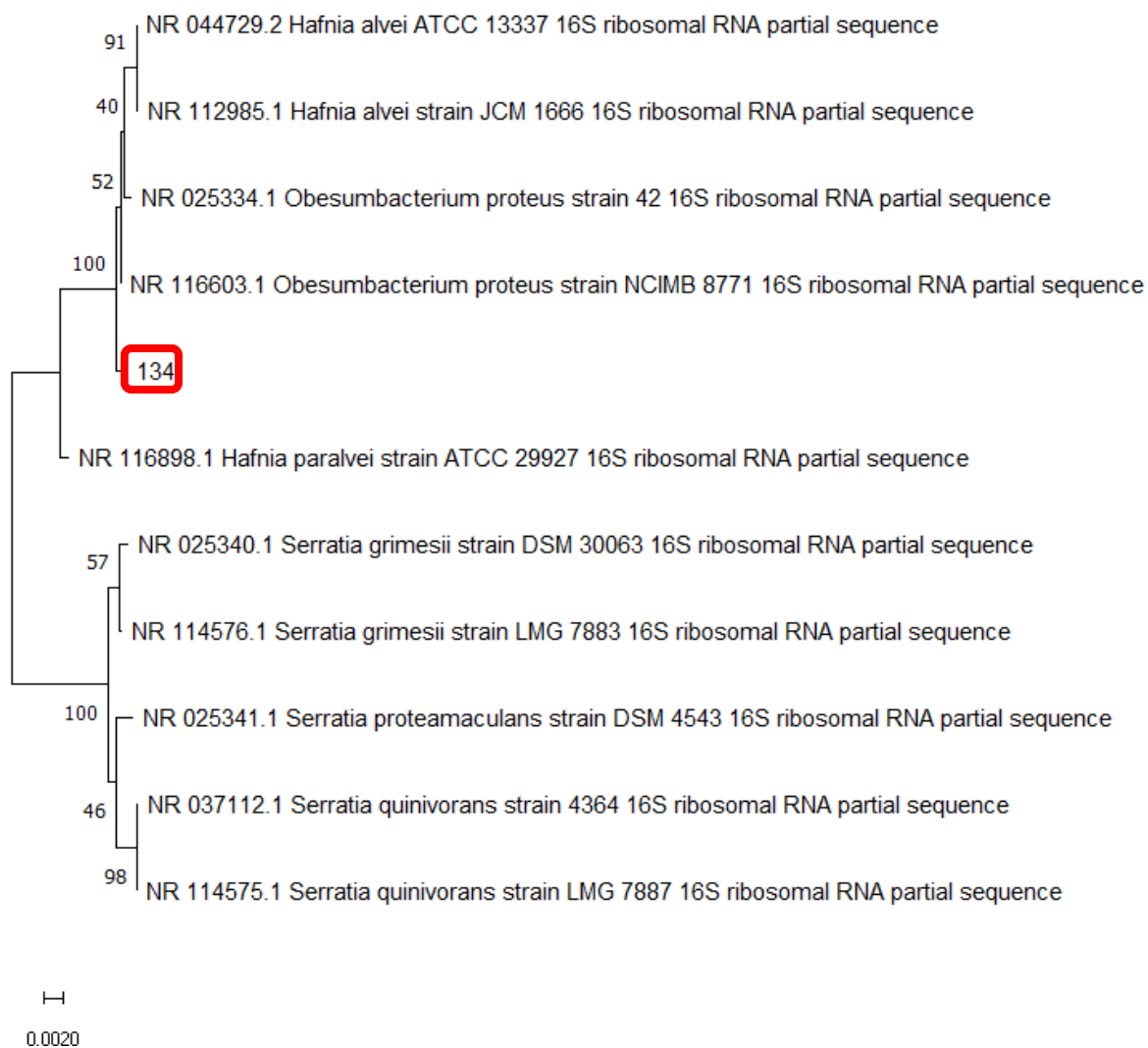


11.5. Análisis bioinformático del aislamiento 134

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
Obesumbacterium proteus strain 42 16S ribosomal RNA, partial sequence	Obesumbacterium proteus	100%	99.65%	1490	NR_025334.1
Hafnia alvei strain JCM 1666 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia alvei	100%	99.65%	1473	NR_112985.1
Obesumbacterium proteus strain NCIMB 8771 16S ribosomal RNA, partial sequence	Obesumbacterium proteus	100%	99.36%	1436	NR_116603.1
Hafnia alvei ATCC 13337 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia alvei ATCC 13337	100%	99.36%	1488	NR_044729.2
Hafnia paralvei strain ATCC 29927 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia paralvei	100%	98.87%	1495	NR_116898.1
Serratia quinivorans strain 4364 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia quinivorans	100%	97.95%	1508	NR_037112.1
Serratia quinivorans strain LMG 7887 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia quinivorans	100%	97.88%	1464	NR_114575.1
Serratia proteamaculans strain DSM 4543 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia proteamaculans	100%	97.80%	1502	NR_025341.1
Serratia grimesii strain DSM 30063 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia grimesii	100%	97.80%	1495	NR_025340.1
Serratia grimesii strain LMG 7883 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia grimesii	100%	97.74%	1461	NR_114576.1

11.6. Análisis filogenético del aislamiento 134



12. Secuencia del aislamiento 136

12.1. Forward_136

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGGACGGGTGAGTA
ATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATGAC
GTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAG
CTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGC
CACACTGGAAGTGGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAAT
GGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTT
CAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCAC
CGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGG
GCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAAC
TGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAA
ATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTC
AGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGT
CGACCTGGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCT
GGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAAC
CAGGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACTTCCCGAGAATTT

12.2. Reverse_136

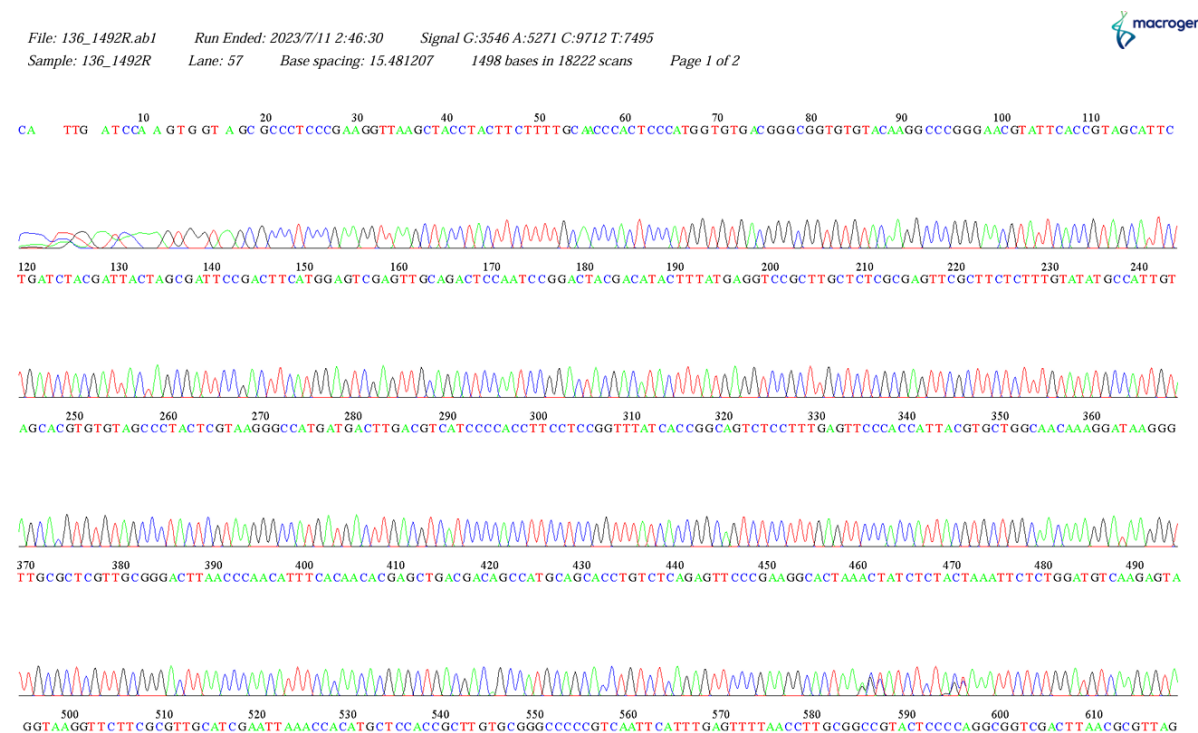
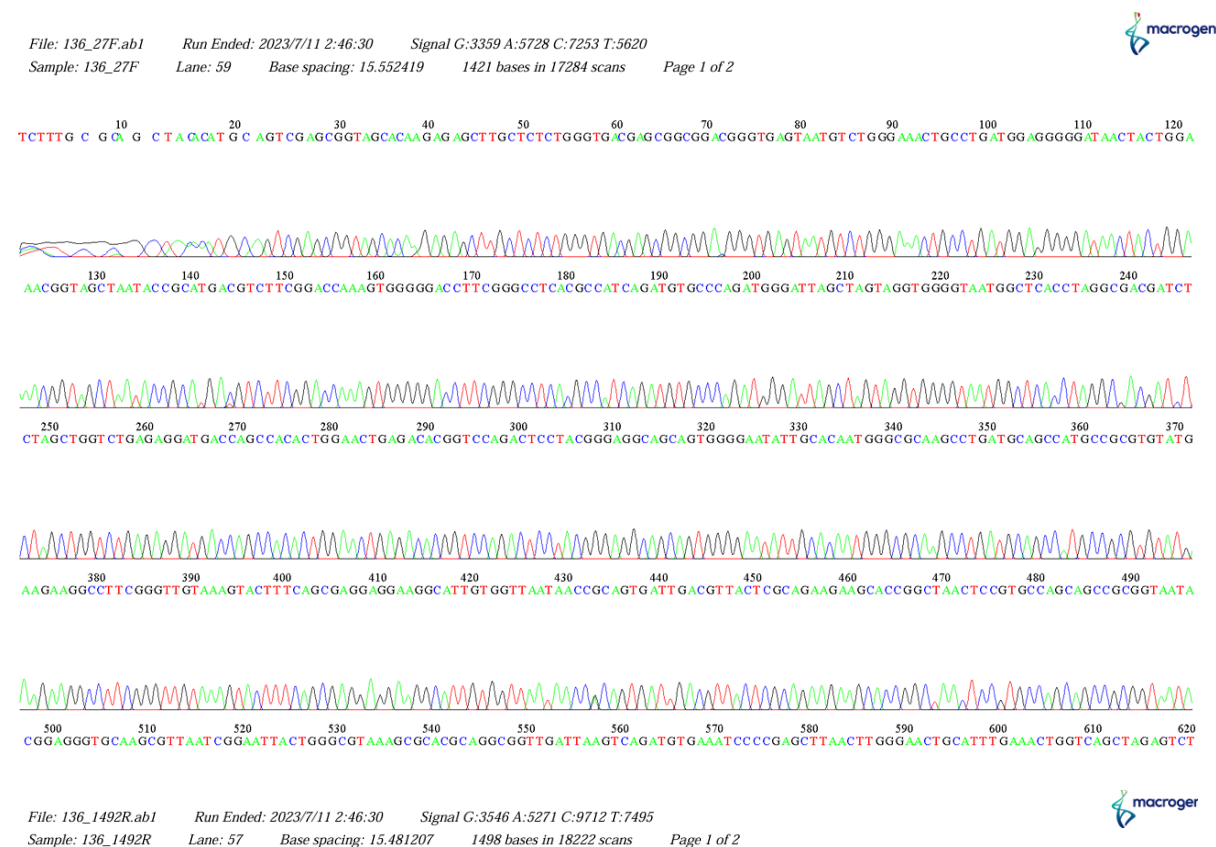
GGCCCCAGCCTGATGCAGCCCTGCCGCGTGTTTGAAGAAGCCTTTCGGGTTGTAAAGTACTTTTA
GCGAGGAGGAGGGCATTGTGGTTAATAACCACAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCG
GCTAATTCGTCGCCGAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTTATTGGAATTACTGGGC
GTAAAGCGCACGCCGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAAGT
CATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAAT
GCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAG
GTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTG
ACTTGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGG
GAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAGCAT
GTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTAGTAGAGA
TAGTTTAGTGCCTTCGGGAAGTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAA
ATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGA
ACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCC
CTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAAGTCCGCGAGAGC
AAGCGGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGG
AATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTTACACACCGCC
CGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAGAAGTAGGTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCTACCA

12.3. Consenso_136

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGG
ACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAA
ACGGTAGCTAATAACCGCATGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGC
CTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGC
TCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGA
ACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACA
ATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGT
TGTAAGTACTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATT
GACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAA
TACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGC
GGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGA
AACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTG
AAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATAACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAA
AGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTG
GTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGACCTGGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTG
GCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGT
TAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCCATGTGGTT
TAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTAGT
AGAGATAGTTTGTAGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGT
CAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATC
CTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAAC
CGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTA
CACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGCG
GACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGA
AGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGG
GCCTTGACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGG
TAGCTTAACCTTCGGGAGGGGCGCTACCA

12.4. Electroferograma del aislamiento 136

El aislamiento codificado como 136 fue analizado a través de secuenciamiento Sanger mediante el secuenciador automático ABI que traduce señales fluorescentes en la secuencia de bases correspondientes.



12.5. Análisis bioinformático del aislamiento 136

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
Hafnia alvei strain JCM 1666 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia alvei	100%	99.29%	1473	NR_112985.1
Obesumbacterium proteus strain NCIMB 8771 16S ribosomal RNA, partial sequence	Obesumbacterium proteus	100%	99.08%	1436	NR_116603.1
Hafnia alvei ATCC 13337 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia alvei ATCC 13337	100%	99.01%	1488	NR_044729.2
Obesumbacterium proteus strain 42 16S ribosomal RNA, partial sequence	Obesumbacterium proteus	100%	99.08%	1490	NR_025334.1
Hafnia paralvei strain ATCC 29927 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia paralvei	100%	98.52%	1495	NR_116898.1
Serratia quinivorans strain 4364 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia quinivorans	100%	97.60%	1508	NR_037112.1
Serratia quinivorans strain LMG 7887 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia quinivorans	100%	97.53%	1464	NR_114575.1
Serratia proteamaculans strain DSM 4543 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia proteamaculans	100%	97.46%	1502	NR_025341.1
Serratia grimesii strain DSM 30063 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia grimesii	100%	97.46%	1495	NR_025340.1
Serratia grimesii strain NBRC 13537 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia grimesii	100%	97.25%	1468	NR_113616.1

12.6. Análisis filogenético del aislamiento 136



13. Secuencia del aislamiento 138

13.1. Forward_138

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGGACGGGTGAGTA
ATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATGAC
GTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAG
CTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGC
CACACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAAT
GGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTT
CAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCAC
CGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGG
GCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAAC
TGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAA
ATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTC
AGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGT
CGACTTGAGAGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGG
GGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCA
TGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTGCTAGAG
ATGCTTTAGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAA
ATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCTTATCCTTGTTGCCGCACGTAAGGTGGGAACT
CAA

13.2. Reverse_138

TGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCCTGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTT
CGGGTTGTAAAGTACTTTACGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCACAGTGATTGACGTT
ACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGC
GTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCC
GAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGAGAGGGGGGTAGAATTC
CAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCTGG
ACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCC
ACGCTGTAAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGT
TAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCG
ACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCC
AGAGAATTTAGCAGAGATAGTTTAGTGCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCC
TCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCC
AGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGA
CGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGA
AGCGAACTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAAC
TCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCC

GGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGCTTAACC
TTCGGGAGGGGCGCT

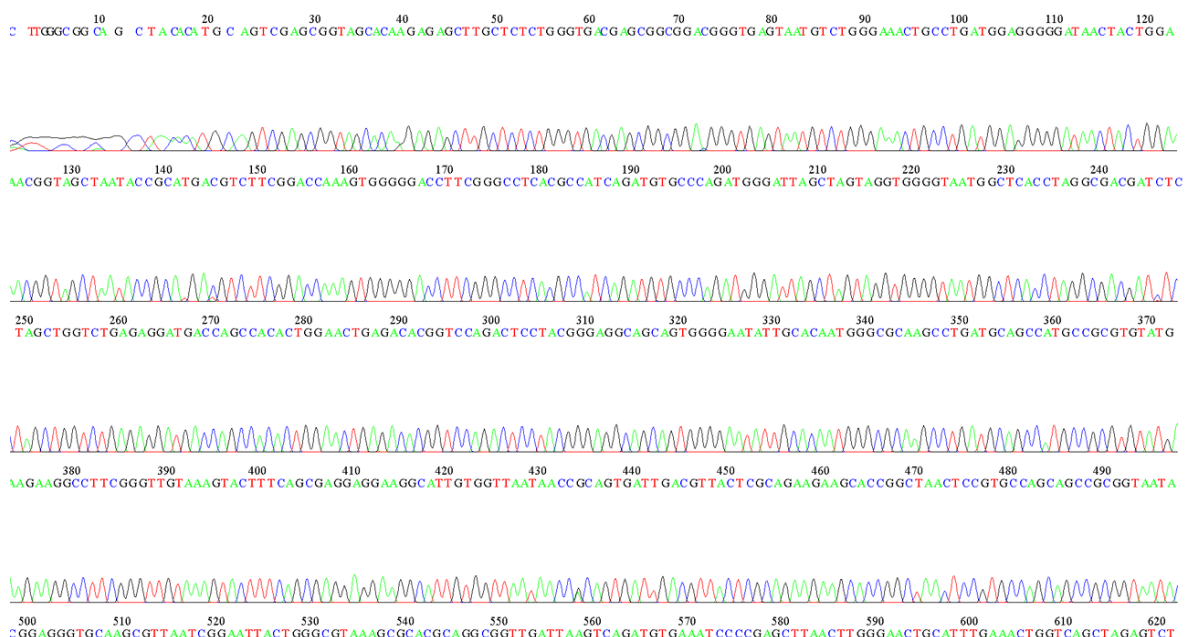
13.3. Consenso_138

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGG
ACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAA
ACGGTAGCTAATAACCGCATGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGC
CTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGC
TCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGA
ACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACA
ATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTTCGGG
TTGTAAAGTACTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGAT
TGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTA
ATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGG
CGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTG
AACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGT
GAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGAC
AAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCC
TGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTGCACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGT
GGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAG
GTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGT
TTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTGC
TAGAGATGCTTTAGTGCCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTGC
TCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTAT
CCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAA
CCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCT
ACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGC
GGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATG
AAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCG
GGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAG
GTAGCTTAACCTTCGGGAGGGGCGCT

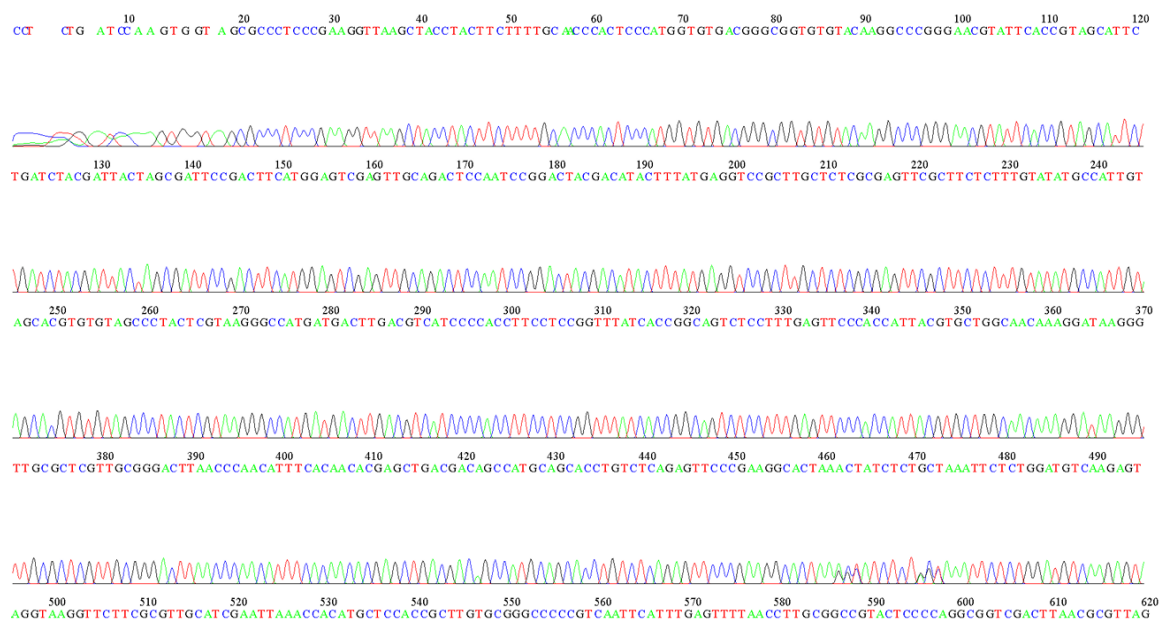
13.4. Electroferograma del aislamiento 138

El aislamiento codificado como 138 fue analizado a través de secuenciación Sanger mediante el secuenciador automático ABI que traduce señales fluorescentes en la secuencia de bases correspondientes.

File: 138_27F.ab1 Run Ended: 2023/7/11 2:46:30 Signal C:2622 A:3976 C:4655 T:3909
Sample: 138_27F Lane: 55 Base spacing: 15.502941 1407 bases in 16958 scans Page 1 of 2



File: 138_1492R.ab1 Run Ended: 2023/7/11 2:46:30 Signal C:4244 A:5525 C:9409 T:7390
Sample: 138_1492R Lane: 53 Base spacing: 15.602 1431 bases in 17450 scans Page 1 of 2

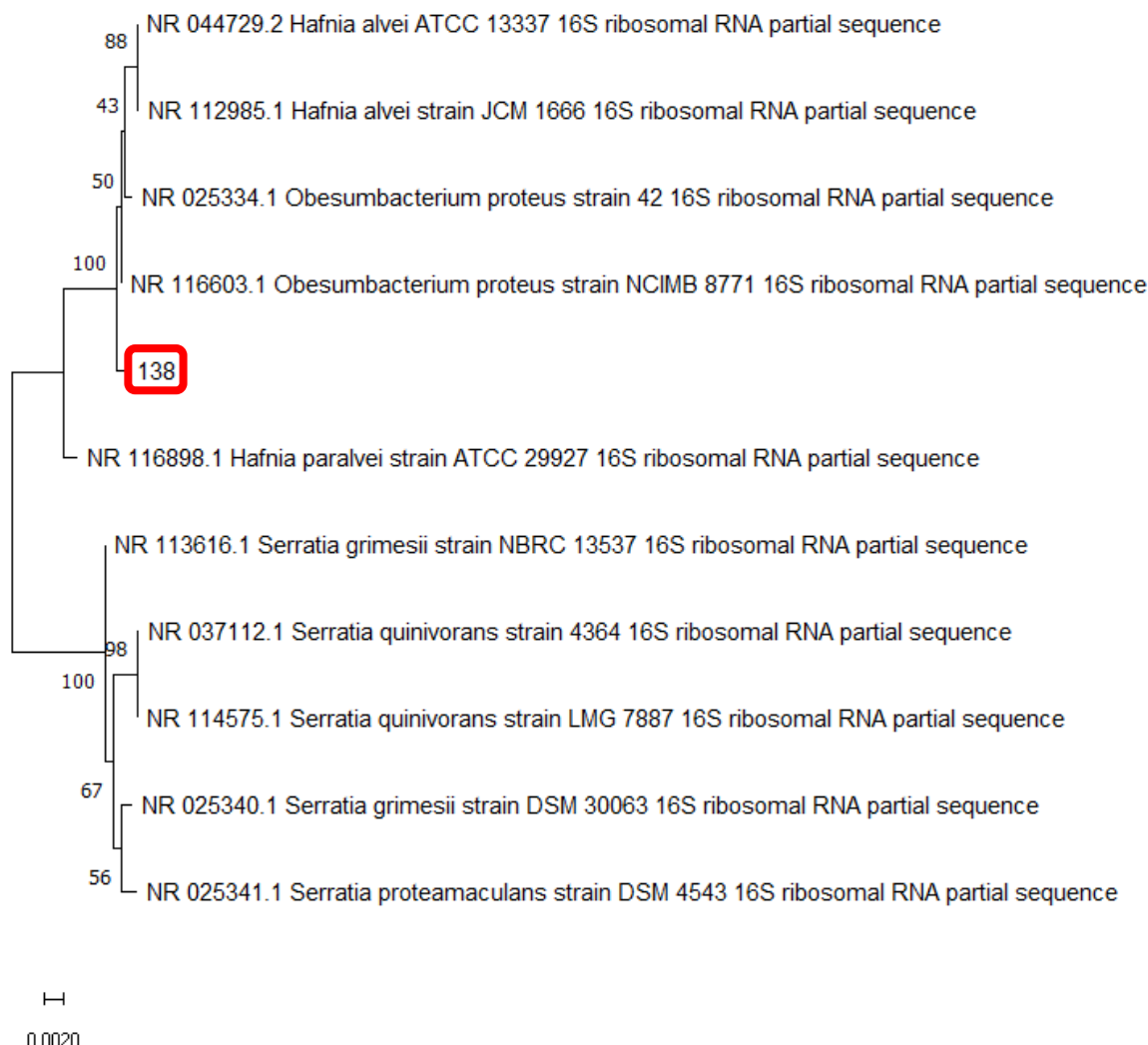


13.5. Análisis bioinformático del aislamiento 138

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
Obesumbacterium proteus strain 42 16S ribosomal RNA, partial sequence	Obesumbacterium proteus	100%	99.57%	1490	NR_025334.1
Hafnia alvei strain JCM 1666 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia alvei	100%	99.57%	1473	NR_112985.1
Obesumbacterium proteus strain NCIMB 8771 16S ribosomal RNA, partial sequence	Obesumbacterium proteus	100%	99.29%	1436	NR_116603.1
Hafnia alvei ATCC 13337 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia alvei ATCC 13337	100%	99.29%	1488	NR_044729.2
Hafnia paralvei strain ATCC 29927 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia paralvei	100%	98.80%	1495	NR_116898.1
Serratia quinivorans strain 4364 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia quinivorans	100%	97.88%	1508	NR_037112.1
Serratia quinivorans strain LMG 7887 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia quinivorans	100%	97.81%	1464	NR_114575.1
Serratia proteamaculans strain DSM 4543 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia proteamaculans	100%	97.74%	1502	NR_025341.1
Serratia grimesii strain DSM 30063 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia grimesii	100%	97.74%	1495	NR_025340.1
Serratia grimesii strain NBRC 13537 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia grimesii	100%	97.52%	1468	NR_113616.1

13.6. Análisis filogenético del aislamiento 138



14. Aislamiento 139

14.1. Forward_139

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGGACGGGTGAGTA
ATGTCTGGGAACTGCCTGATGGAGGGGGATACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATGAC
GTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAG
CTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGC
CACACTGGAAGTGGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAAT
GGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTT
CAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCAC
CGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGG
GCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAAC
TGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGGTAGAATTCCAGGGTGTAGCGGTG
AAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGC

TCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGAT
GTCGACCTGGGAAGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCC
CGGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCGCACAAGCGGTGGA
ACCAGGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACTTCCCGAGAATTTGC
AGAGATGCTTAGTGCCTTCGGGACTCT

14.2. Reverse_139

CGCAAGCCTGATGCAGCCCTGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTTCAG
CGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGG
CTAATTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTTATTGGAATTACTGGGCG
TAAAGCGCACGCCGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAAGTTGGGAACTGC
ATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATG
CGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGG
TGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGA
CTTGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGG
AGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAGCATGT
GGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTAGCAGAGATA
GCTTAGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAA
TGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAA
CTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCC
TTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCA
AGCGGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGA
ATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCC
GTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCTTACCA
CT

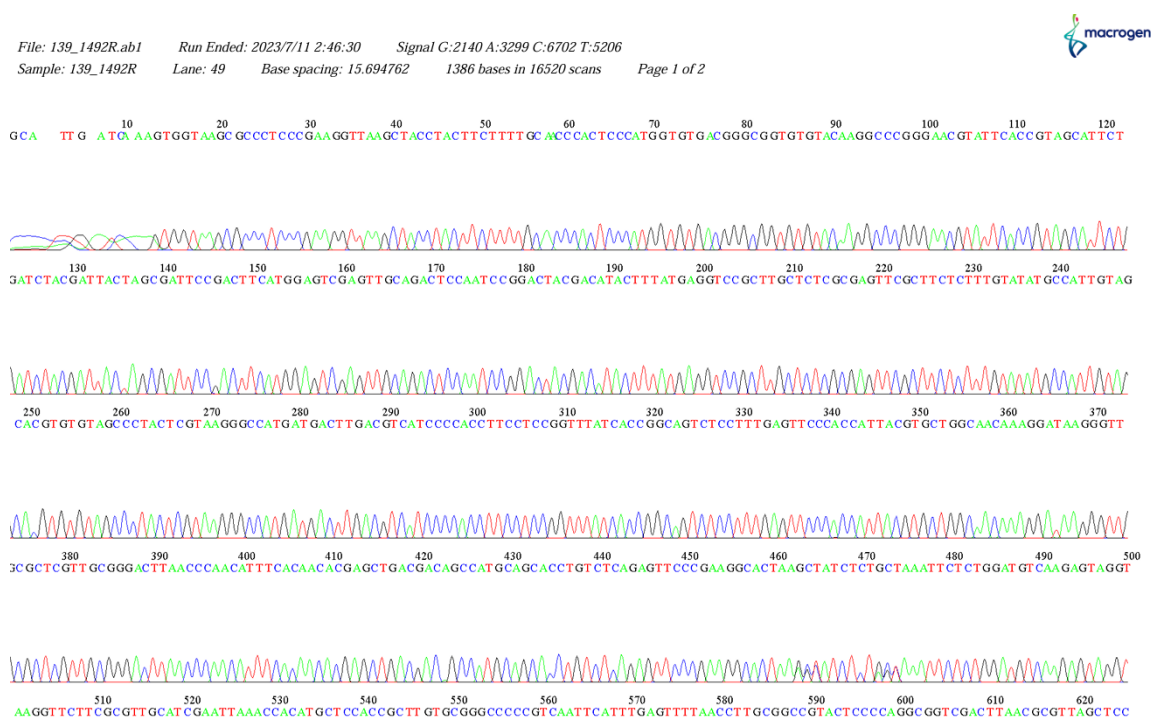
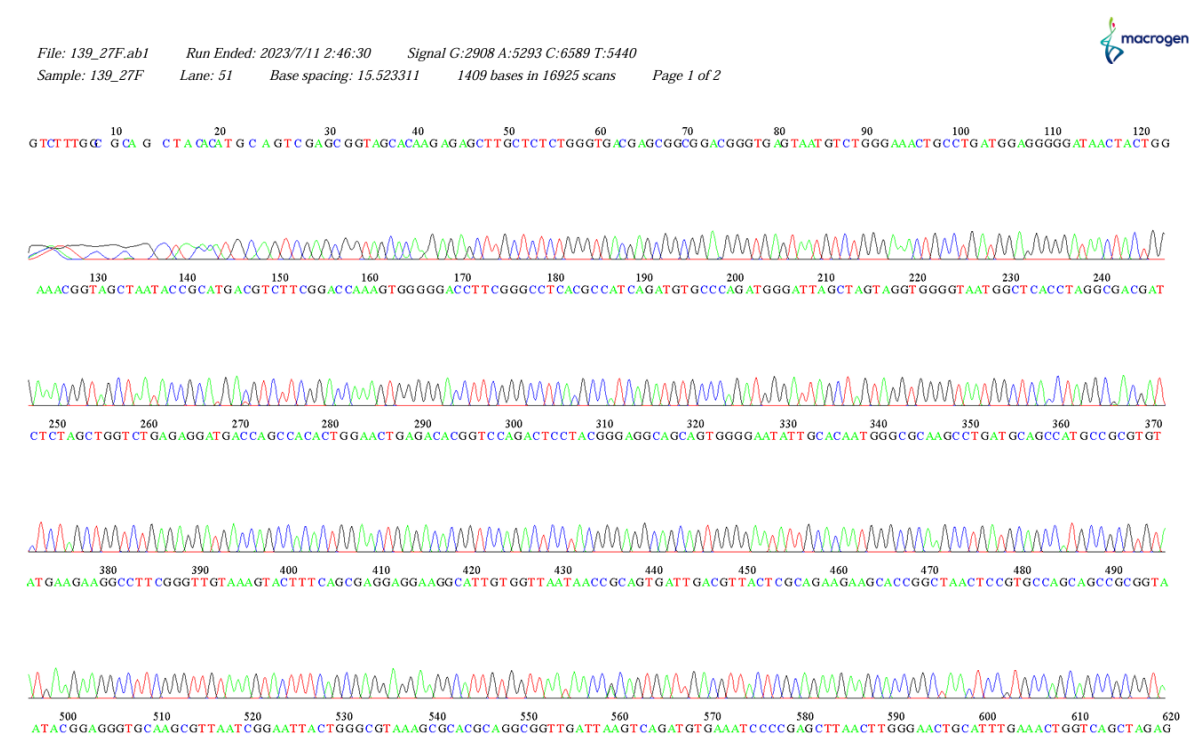
14.3. Consenso_139

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGG
ACGGGTGAGTAATGTCTGGGAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAA
ACGGTAGCTAATAACCGCATGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGC
CTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGC
TCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGA
ACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACA
ATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGT
TGTAAGTACTTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATT
GACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAA
TACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGC
GGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAAGTTGGGAACTGCATTTGA

AACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGGGTAGAATTCCAGGGTGTAGCGG
TGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGAC
AAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCC
TGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGACCTGGGAAGTTGTGCCCTTGAGGCG
TGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCCGGGGGAGTACGGCCGCA
AGGTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAACCAGGT
GGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATT
TAGCAGAGATAGCTTAGTGCCTTCGGGAAGTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCT
GTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACC
CTTATCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAAGTCAAAGGAGACTGCCGGTG
ATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTA
GGGCTACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAG
CAAGCGGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACT
CCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGT
TCCCGGGCCTTGTTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGA
AGTAGGTAGCTTAACCTTCGGGAGGGGCGCTTACCACT

14.4. Electroferograma del aislamiento 139

El aislamiento codificado como 139 fue analizado a través de secuenciación Sanger mediante el secuenciador automático ABI que traduce señales fluorescentes en la secuencia de bases correspondientes.

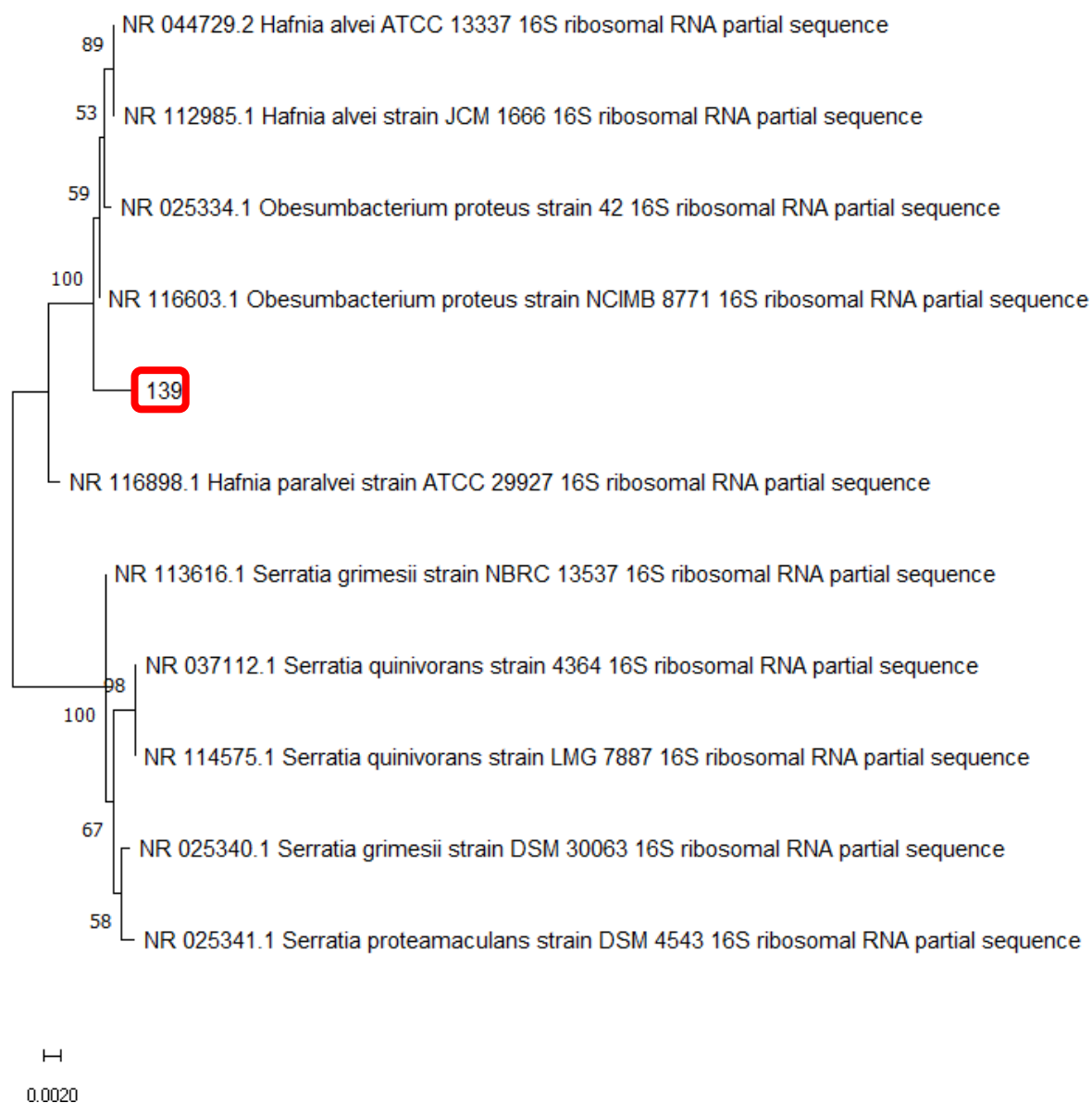


14.5. Análisis bioinformático del aislamiento 139

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
<u>Hafnia alvei strain JCM 1666 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia alvei</u>	100%	98.95%	1473	<u>NR_112985.1</u>
<u>Obesumbacterium proteus strain NCIMB 8771 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Obesumbacterium proteus</u>	100%	98.66%	1436	<u>NR_116603.1</u>
<u>Obesumbacterium proteus strain 42 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Obesumbacterium proteus</u>	100%	98.80%	1490	<u>NR_025334.1</u>
<u>Hafnia alvei ATCC 13337 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia alvei ATCC 13337</u>	100%	98.66%	1488	<u>NR_044729.2</u>
<u>Hafnia paralvei strain ATCC 29927 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia paralvei</u>	100%	98.17%	1495	<u>NR_116898.1</u>
<u>Serratia quinivorans strain 4364 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia quinivorans</u>	100%	97.26%	1508	<u>NR_037112.1</u>
<u>Serratia quinivorans strain LMG 7887 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia quinivorans</u>	100%	97.19%	1464	<u>NR_114575.1</u>
<u>Serratia proteamaculans strain DSM 4543 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia proteamaculans</u>	100%	97.12%	1502	<u>NR_025341.1</u>
<u>Serratia grimesii strain DSM 30063 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia grimesii</u>	100%	97.12%	1495	<u>NR_025340.1</u>
<u>Serratia grimesii strain NBRC 13537 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia grimesii</u>	100%	96.91%	1468	<u>NR_113616.1</u>

14.6. Análisis filogenético del aislamiento 139



15. Secuencia del aislamiento M13

15.1. Forward_M13

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAGAGAGCTTGCTTCTCTGGGTGACGAGCGGCGGACGGGTGAGT
AATGTCTGGGAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATGA
CGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGCCATCAGATGTGCCAGATGGGATTA
GCTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAG
CCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAA
TGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTT
TCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCA
CCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTG
GGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAA
CTGCATTTGAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGA
AATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCT
CAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATG
TCGACCTGGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCT
GGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCGACAAAGCGGTGGAAG
CAGGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACTTCCAGAGAATTTGCTAG
AGATGCTTTAGTGCCTTCGGGACTCTGAGACAGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGGGT

15.2. Reverse_M13

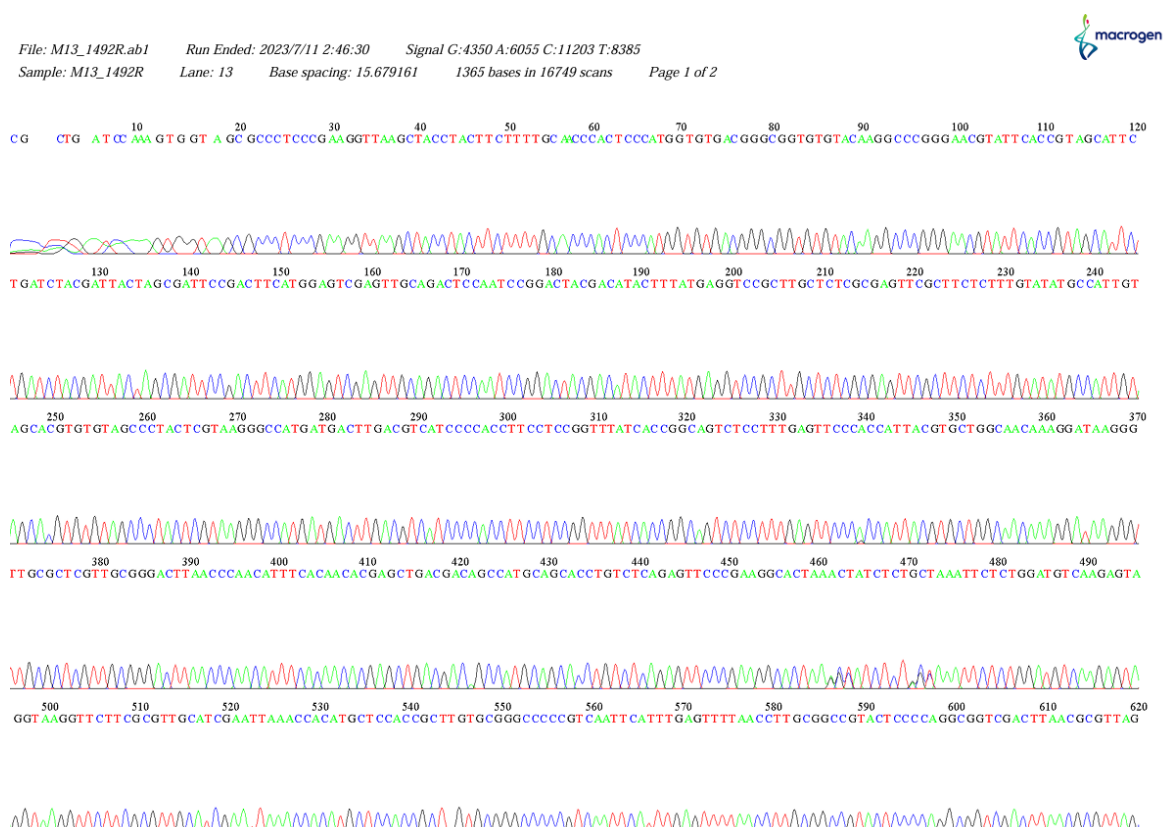
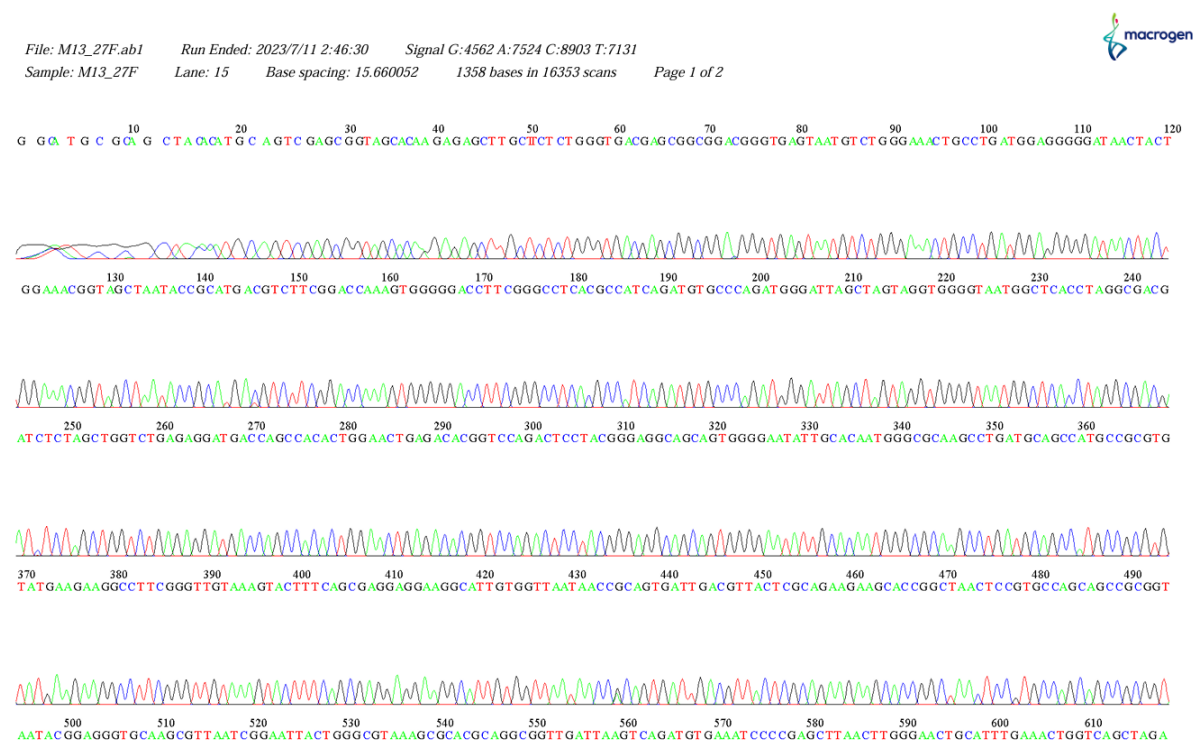
CTTGATGCAGCCCTGCCGCGTGTATGAAGAAGCCTTTCGGGTTGTAAAGTACTTTCAGCGAGGA
GGAAGGCATTGTGGTTAATAACCACAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACC GGCTAACTC
CGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTTATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCG
CACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGAAA
CTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGA
TCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAG
CGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGACTTGGAGG
TTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGC
CGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCGACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAT
TCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTAGCAGAGATAGTTTAGT
GCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGG
TTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAG
GAGACTGCCGGTGATAAACC GGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAG
TAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGCGGAC
CTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTA
GTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACAC
CATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCTACCAC

15.3. Consenso_M13

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAAGAGAGCTTGCTTCTCTGGGTGACGAGCGGCGG
ACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAA
ACGGTAGCTAATAACCGCATGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGC
CTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGC
TCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGA
ACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACA
ATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGT
TGTAAGTACTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATT
GACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAA
TACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGC
GGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGA
AACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTG
AAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATAACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAA
AGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTG
GTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGACCTGGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTG
GCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGT
TAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAAGCAGGTGGTT
TAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACTTCCAGAGAATTTAGC
AGAGATAGTTTGTAGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGT
CAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATC
CTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAAC
CGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTA
CACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGCG
GACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGA
AGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGG
GCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGG
TAGCTTAACCTTCGGGAGGGGCGCTACCAC

15.4. Electroferograma del aislamiento M13

El aislamiento codificado como M13 fue analizado a través de secuenciamiento Sanger mediante el secuenciador automático ABI que traduce señales fluorescentes en la secuencia de bases correspondientes.



15.5. Análisis bioinformático del aislamiento M13

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
Hafnia alvei strain JCM 1666 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia alvei	100%	99.15%	1473	NR_112985.1
Obesumbacterium proteus strain NCIMB 8771 16S ribosomal RNA, partial sequence	Obesumbacterium proteus	100%	98.87%	1436	NR_116603.1
Hafnia alvei ATCC 13337 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia alvei ATCC 13337	100%	98.87%	1488	NR_044729.2
Obesumbacterium proteus strain 42 16S ribosomal RNA, partial sequence	Obesumbacterium proteus	100%	98.94%	1490	NR_025334.1
Hafnia paralvei strain ATCC 29927 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia paralvei	100%	98.31%	1495	NR_116898.1
Serratia quinivorans strain 4364 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia quinivorans	100%	97.40%	1508	NR_037112.1
Serratia quinivorans strain LMG 7887 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia quinivorans	100%	97.33%	1464	NR_114575.1
Serratia proteamaculans strain DSM 4543 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia proteamaculans	100%	97.26%	1502	NR_025341.1
Serratia grimesii strain DSM 30063 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia grimesii	100%	97.26%	1495	NR_025340.1
Serratia grimesii strain LMG 7883 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia grimesii	100%	97.19%	1461	NR_114576.1

15.6. Análisis filogenético del aislamiento M13



16. Secuencia del aislamiento M15

16.1. Forward_M15

TATGGCGGCAGCTACACATGCAGTCGAGCGGTAGCACAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAG
CGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAACGG
TAGCTAATACCGCATGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGCCATCAGAT
GTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGG
TCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCA
GTGGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCT
TCGGGTTGTAAAGTACTTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGT
TACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAG
CGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCC
CGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATT
CCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTG
GACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTC
CACGCTGTAAACGATGTGACCTGGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGC
GTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGGCCC
GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACAT
CCAGAGAATTTGCTAGAGATGCTTTAGTGCCTTCGGGACT

16.2. Secuencia Reverse_M15

CGGGTTGTAAAGTACTTTAAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCACAGTGATTGACGTT
ACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAATTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCCAGC
GTTTATTGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCC
GAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTC
CAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGG
ACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCC
ACGCTGTAAACGATGTGCACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGT
TAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGC
ACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCC
AGAGAATTTAGCAGAGATAGCTTAGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTC
GTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGC
CAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATG
ACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAG
AAGCGAACTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAA
CTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCC
GGGCCTTGACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGCTTAAC
CTTCGGGAGGGCG

16.3. Consenso_M15

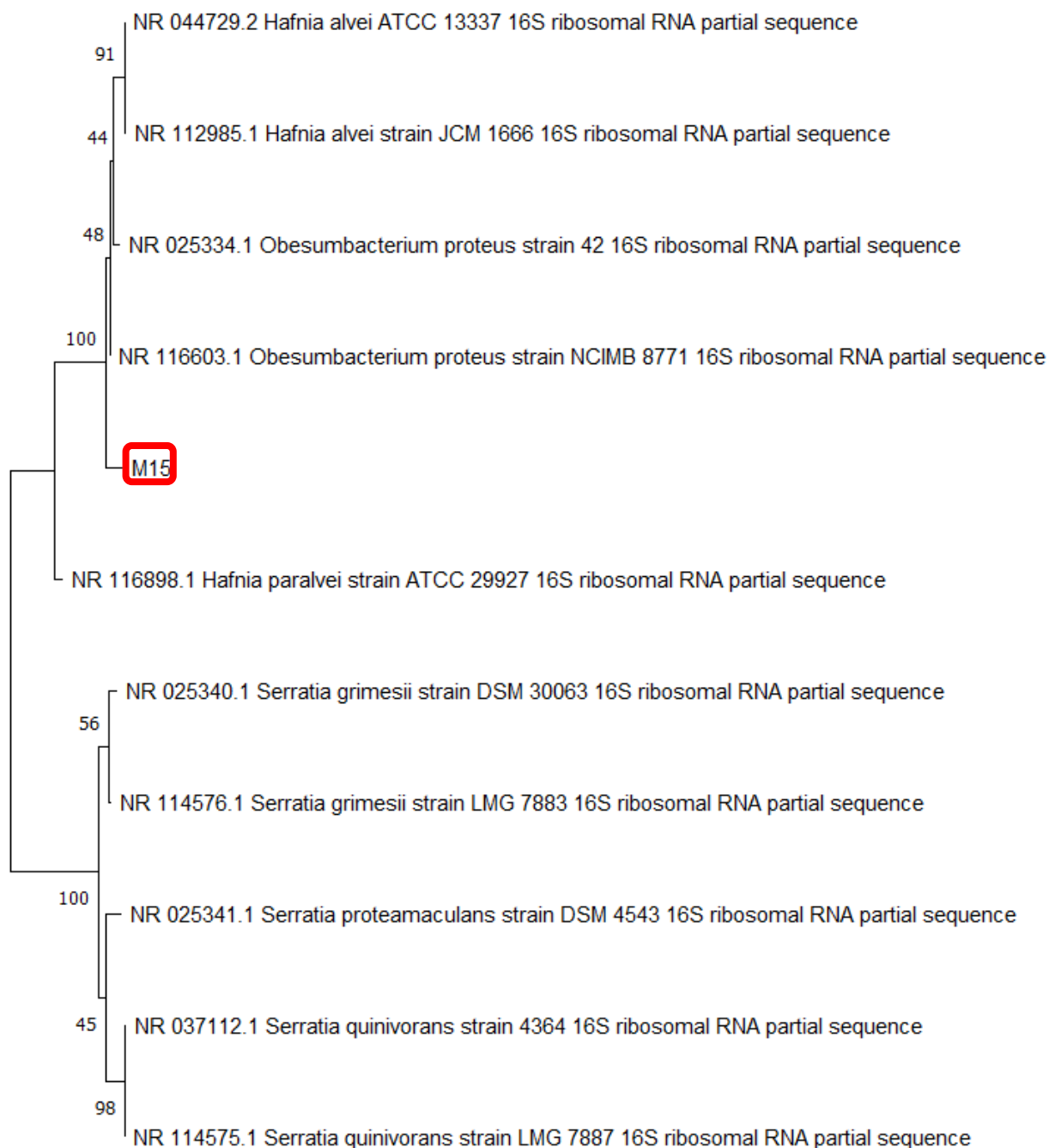
TCGAGCGGTAGCACAAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGGACGGG
TGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGT
AGCTAATACCGCATGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCAC
GCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACC
TAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAGTGA
GACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGG
CGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAA
AGTACTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGT
TACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGG
AGGGTGCAAGCGTTaATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTG
ATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGAACTG
GTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATG
CGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACT
GACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGT
CCACGCTGTAAACGATGTGACCTGGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTC
CGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAA
CTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTC
GATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTGCTAGAGA
TGCTTTAGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCT
CGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTG
TTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGA
GGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACA
CGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGCGGACC
TCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTC
GGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCT
TGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGC
TTAACCTTCGGGAGGGCG

16.5. Análisis bioinformático del aislamiento M15

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
Obesumbacterium proteus strain 42 16S ribosomal RNA, partial sequence	Obesumbacterium proteus	100%	99.57%	1490	NR_025334.1
Hafnia alvei strain JCM 1666 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia alvei	100%	99.57%	1473	NR_112985.1
Obesumbacterium proteus strain NCIMB 8771 16S ribosomal RNA, partial sequence	Obesumbacterium proteus	100%	99.29%	1436	NR_116603.1
Hafnia alvei ATCC 13337 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia alvei ATCC 13337	100%	99.29%	1488	NR_044729.2
Hafnia paralvei strain ATCC 29927 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia paralvei	100%	98.79%	1495	NR_116898.1
Serratia quinivorans strain 4364 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia quinivorans	100%	97.86%	1508	NR_037112.1
Serratia quinivorans strain LMG 7887 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia quinivorans	100%	97.80%	1464	NR_114575.1
Serratia proteamaculans strain DSM 4543 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia proteamaculans	100%	97.72%	1502	NR_025341.1
Serratia grimesii strain DSM 30063 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia grimesii	100%	97.72%	1495	NR_025340.1
Serratia grimesii strain LMG 7883 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia grimesii	100%	97.65%	1461	NR_114576.1

16.6. Análisis filogenético del aislamiento M15



17. Secuencia del aislamiento M16

17.1. Forward_M16

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGGACGGGTGAGTA
ATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATGAC
GTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAG
CTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGC
CACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAAT
GGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTT
CAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCAC
CGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGG
GCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAAC
TGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAA
ATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTC
AGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGT
CGACTTGAGAGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGG
GGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCA
TGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTGCTAGAG
ATGCTTTAGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGGGTTGTG
AAATGTTGGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCT

17.2. Reverse_M16

CTGATGCAGCCCTGCCGCGTGTATGAAGAAGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTAGCGAGGAGG
AAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCG
TGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCA
CGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGAAACT
GGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATC
TGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCG
TGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGACTTGAGAGTT
GTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCG
CAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTC
GATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTAGCAGAGATAGTTTAGTGC
CTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTTA
AGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGA
GACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTA
GGGCTACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGCGGACCT
CATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGT
AATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACACCA
TGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCT

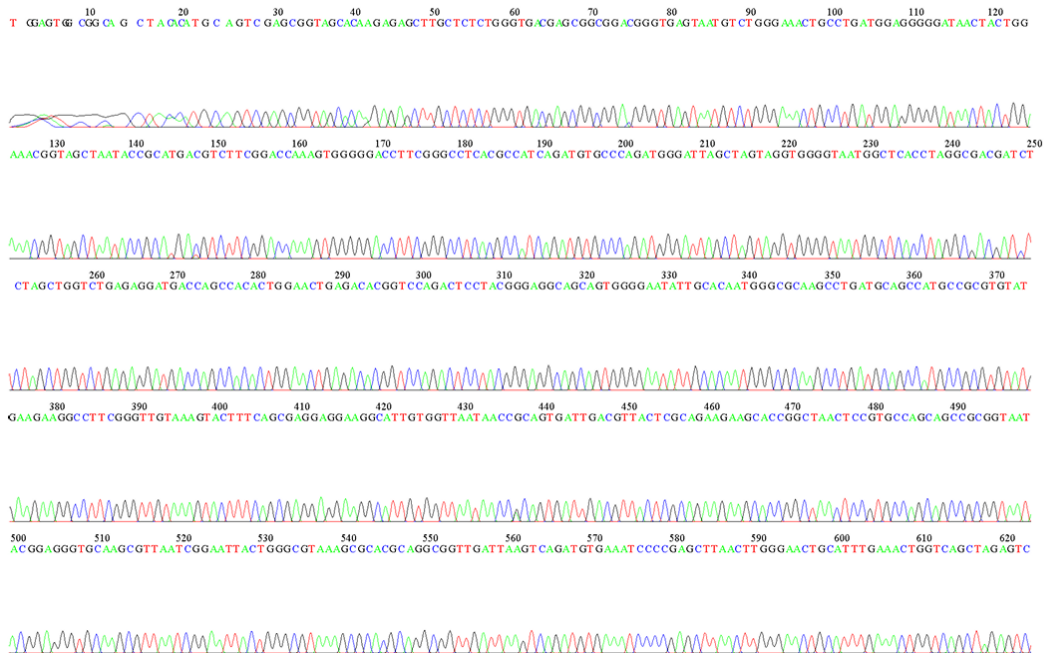
17.3. Consenso_M16

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGG
ACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAA
ACGGTAGCTAATAACCGCATGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGC
CTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGC
TCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGA
ACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACA
ATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGT
TGTAAGTACTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATT
GACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAA
TACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGC
GGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGA
AACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTG
AAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATAACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAA
AGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTG
GTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGG
CTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTT
AAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTA
ATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTAGCA
GAGATAGTTTAGTGCCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTC
AGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATC
CTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAAC
CGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTA
CACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGCG
GACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGA
AGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGG
GCCTTGACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGG
TAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCT

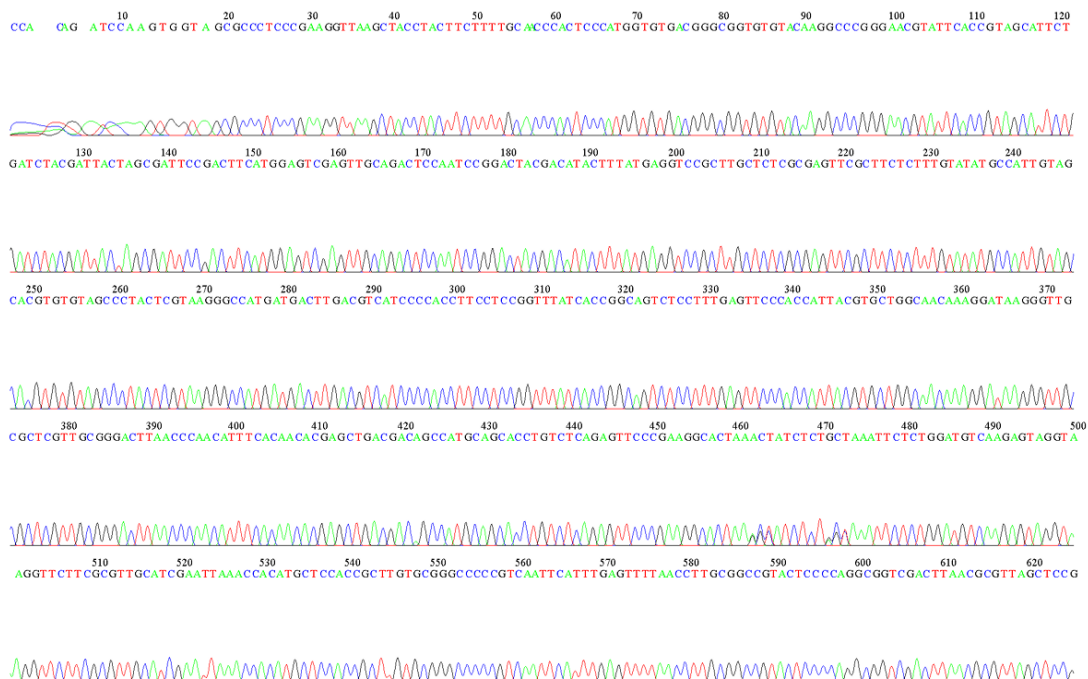
17.4. Electroferograma del aislamiento M16

El aislamiento codificado como M16 fue analizado a través de secuenciamiento Sanger mediante el secuenciador automático ABI que traduce señales fluorescentes en la secuencia de bases correspondientes.

File: M16_27F.ab1 Run Ended: 2023/7/11 2:46:30 Signal G:3666 A:6061 C:6588 T:5807
Sample: M16_27F Lane: 7 Base spacing: 15.685378 1317 bases in 15806 scans Page 1 of 2



File: M16_1492R.ab1 Run Ended: 2023/7/11 2:46:30 Signal G:2574 A:3721 C:5948 T:5596
Sample: M16_1492R Lane: 5 Base spacing: 15.827961 1325 bases in 15984 scans Page 1 of 2

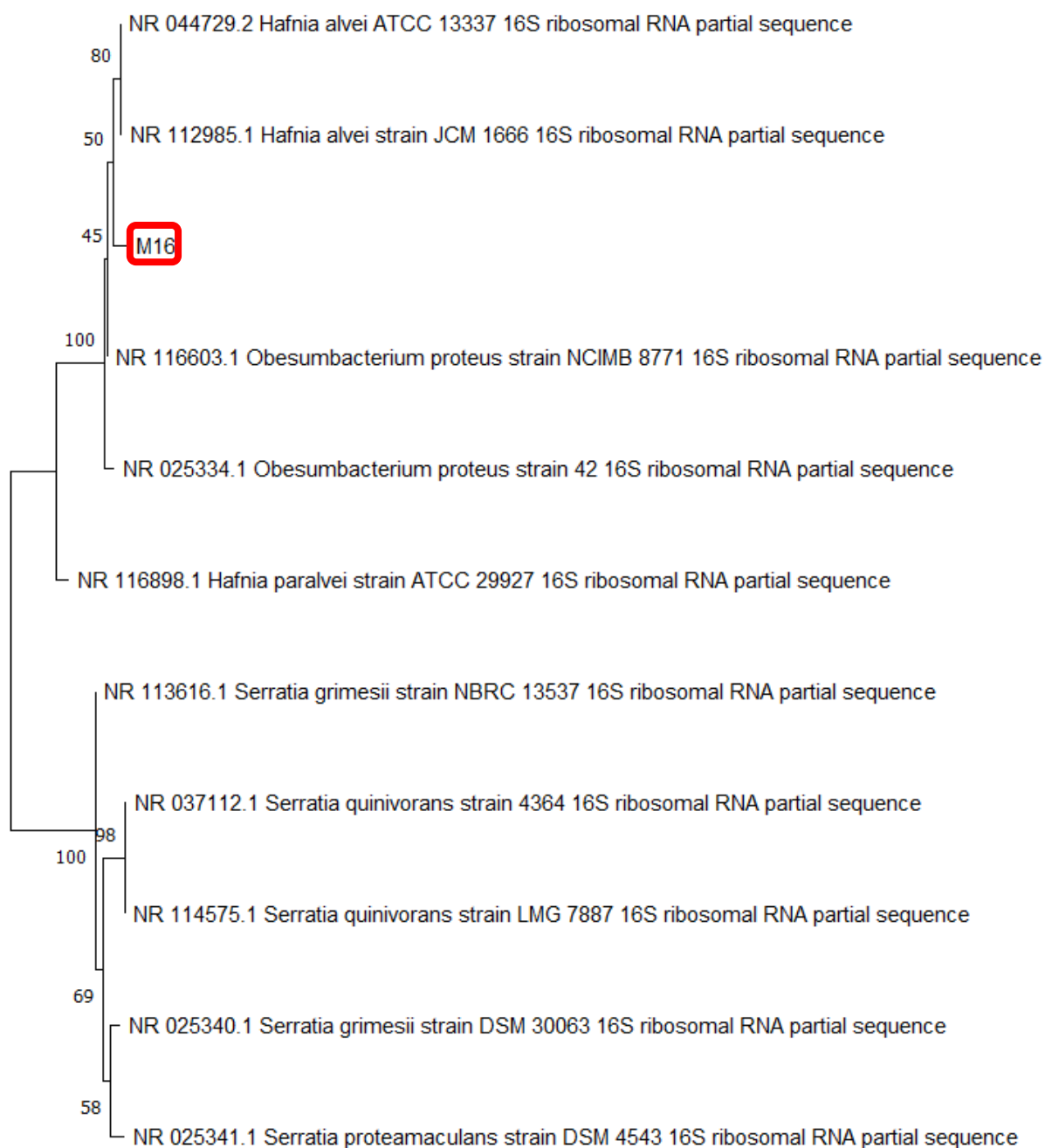


17.5. Análisis bioinformático del aislamiento M16

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
Hafnia alvei strain JCM 1666 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia alvei	100%	99.57%	1473	NR_112985.1
Obesumbacterium proteus strain NCIMB 8771 16S ribosomal RNA, partial sequence	Obesumbacterium proteus	100%	99.29%	1436	NR_116603.1
Hafnia alvei ATCC 13337 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia alvei ATCC 13337	100%	99.29%	1488	NR_044729.2
Obesumbacterium proteus strain 42 16S ribosomal RNA, partial sequence	Obesumbacterium proteus	100%	99.36%	1490	NR_025334.1
Hafnia paralvei strain ATCC 29927 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia paralvei	100%	98.72%	1495	NR_116898.1
Serratia quinivorans strain 4364 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia quinivorans	100%	97.81%	1508	NR_037112.1
Serratia quinivorans strain LMG 7887 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia quinivorans	100%	97.74%	1464	NR_114575.1
Serratia proteamaculans strain DSM 4543 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia proteamaculans	100%	97.66%	1502	NR_025341.1
Serratia grimesii strain DSM 30063 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia grimesii	100%	97.66%	1495	NR_025340.1
Serratia grimesii strain NBRC 13537 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia grimesii	100%	97.45%	1468	NR_113616.1

17.6. Análisis filogenético del aislamiento M16



18. Secuencia del aislamiento M17

18.1. Forward_M17

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGGACGGGTGAGTA
ATGTCTGGGAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATGAC
GTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAG
CTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGC
CACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAAT
GGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTT
CAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCAC
CGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGG
GCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAAC
TGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAA
ATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTC
AGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGT
CGACTTGAGAGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGG
GGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCA
TGTGGTTTAATTTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTGCTAGAG
ATGCTTTAGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGA
AATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCTTATCCTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAA
CTCAAGGAGACTGCCGTGATAACC

18.2. Reverse_M17

CACAATGGGCGCAAGCTTGATGCAGCCCTGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTTCGGGTTGTAA
GTACTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAG
AAGCACCGGCTAATTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTTATCGGAAT
TACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTT
GGGAACTGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGC
GGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTG
ACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAA
CGATGTGCACTTGAGAGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACC
GCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGT
GGAGCATGTGGTTTAATTTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTA
GCAGAGATAGTTTAGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGT
GTTGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCACGTAA
TGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTC
ATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTC
GCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCA
TGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTA

CACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGCTTAACCTTCGGGAGG
GCGCTACCAC

18.3. Consenso_M17

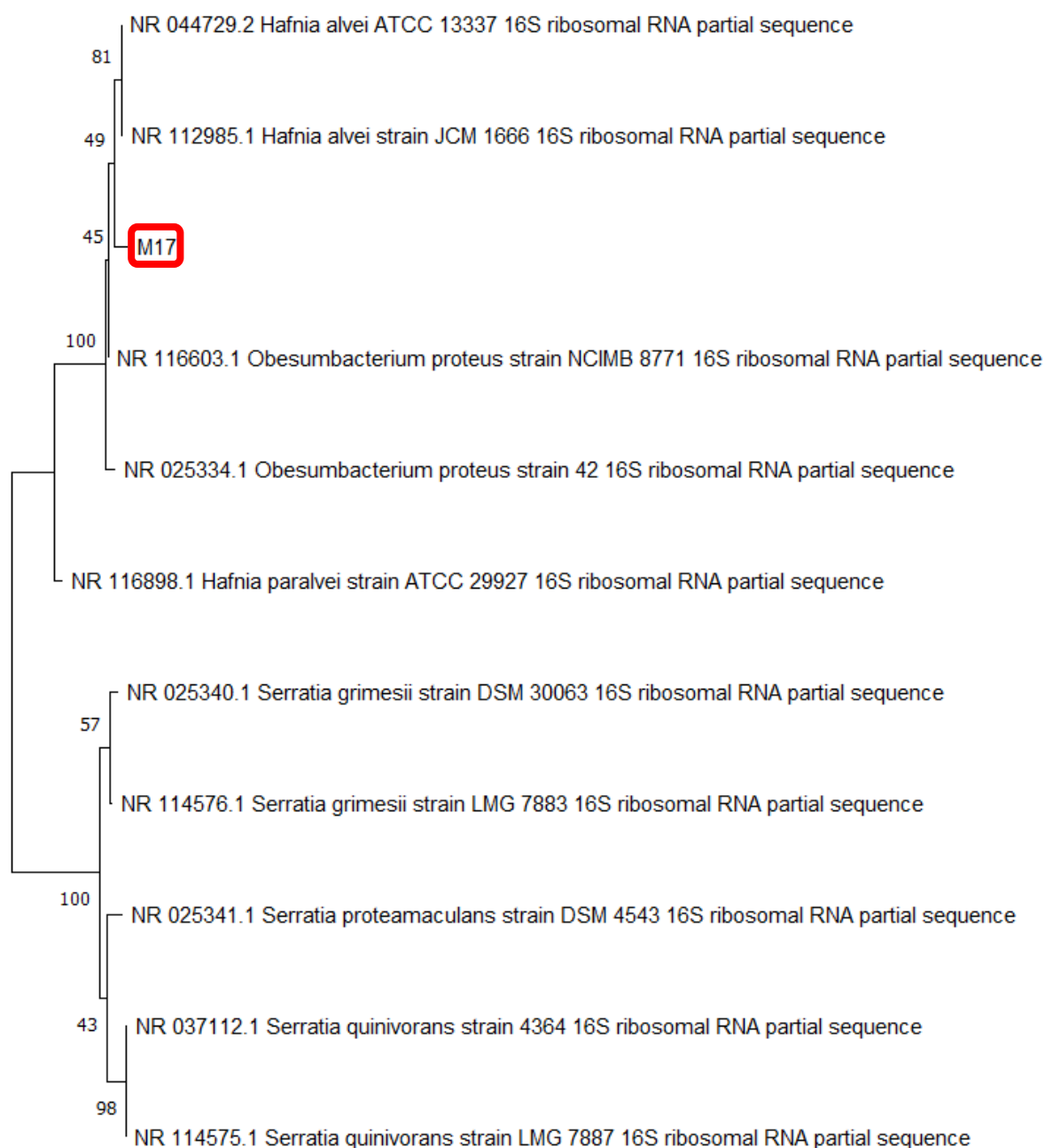
TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGG
ACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAA
ACGGTAGCTAATAACCGCATGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGC
CTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGC
TCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGA
ACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACA
ATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTTCGGG
TTGTAAAGTACTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGAT
TGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTA
ATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGG
CGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTG
AACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGT
GAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGAC
AAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCC
TGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTGCACTTGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGT
GGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAG
GTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGT
TTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTAG
CAGAGATAGTTTAGTGCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTC
GTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTA
TCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAA
ACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGC
TACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGC
GGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATG
AAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCG
GGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAG
GTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCTACCAC

18.5. Análisis bioinformático del aislamiento M17

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
Hafnia alvei strain JCM 1666 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Hafnia alvei</i>	100%	99.51%	1473	NR_112985.1
Obesumbacterium proteus strain NCIMB 8771 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Obesumbacterium proteus</i>	100%	99.22%	1436	NR_116603.1
Hafnia alvei ATCC 13337 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Hafnia alvei</i> ATCC 13337	100%	99.22%	1488	NR_044729.2
Obesumbacterium proteus strain 42 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Obesumbacterium proteus</i>	100%	99.29%	1490	NR_025334.1
Hafnia paralvei strain ATCC 29927 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Hafnia paralvei</i>	100%	98.66%	1495	NR_116898.1
Serratia quinivorans strain 4364 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia quinivorans</i>	100%	97.74%	1508	NR_037112.1
Serratia quinivorans strain LMG 7887 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia quinivorans</i>	100%	97.68%	1464	NR_114575.1
Serratia proteamaculans strain DSM 4543 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia proteamaculans</i>	100%	97.60%	1502	NR_025341.1
Serratia grimesii strain DSM 30063 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia grimesii</i>	100%	97.60%	1495	NR_025340.1
Serratia grimesii strain LMG 7883 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia grimesii</i>	100%	97.54%	1461	NR_114576.1

18.6. Análisis filogenético del aislamiento M17



19. Secuencia del aislamiento M18

19.1. Forward_M18

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGGACGGGTGAGTA
ATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATGAC
GTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAG
CTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGC
CACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAAT
GGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTT
CAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCAC
CGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGG
GCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAAC
TGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAA
ATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTC
AGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGT
CGACCTGGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCT
GGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAG
CATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTGCTAG
AGATGCTTTAGTGCCTTCGGGACTCTGAGACAGTGCTGCATGGGTGTCGTCAGCTCGGGTTGTG
AAAAGGTTGGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCTTATTCTTTGTT

19.2. Reverse_M18

GCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCCTGCCGCGTGTATGAAGAAGCCTTTCGGGTTGTAA
GTACTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAG
AAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTTATTGGAAT
TACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTT
GGGAAGTGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGC
GGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTG
ACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAA
CGATGTGCACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACC
GCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGT
GGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTA
GCAGAGATAGTTTAGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGT
GTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCACGTAA
TGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTC
ATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTC
GCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCA
TGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTA
CACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGCTTAACCTTCGGGAGG
GCGCTACCAC

19.3. Consenso_M18

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGG
ACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAA
ACGGTAGCTAATACCGCATGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGC
CTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGC
TCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGA
ACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACA
ATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGT
TGTAAGTACTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATT
GACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAA
TACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGC
GGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGA
AACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTG
AAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATAACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAA
AGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTG
GTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGACTTGGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTG
GCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGT
TAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTT
AATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTAGCA
GAGATAGTTTAGTGCCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTC
AGCTCGTGTTGTGAAATGGTTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTAT
CCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAA
CCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCT
ACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGC
GGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATG
AAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCG
GGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAG
GTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCTACCAC

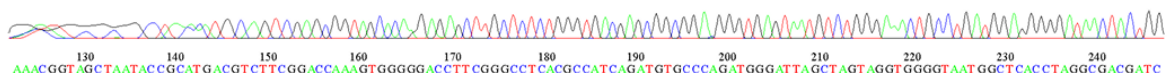
19.4. Electroferograma del aislamiento M18

El aislamiento codificado como M18 fue analizado a través de secuenciamiento Sanger mediante el secuenciador automático ABI que traduce señales fluorescentes en la secuencia de bases correspondientes.

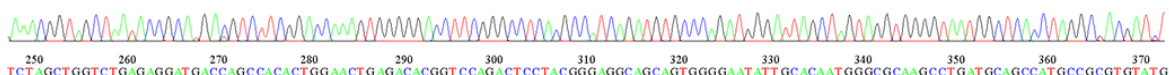
File: M18_27F.ab1 Run Ended: 2023/7/11 2:46:30 Signal G:4672 A:7145 C:8473 T:6966
Sample: M18_27F Lane: 16 Base spacing: 15.699262 1387 bases in 16709 scans Page 1 of 2



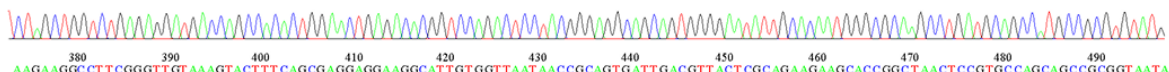
GGCA TGC GCG CTA GATG CAGCGGTAGCACAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGG



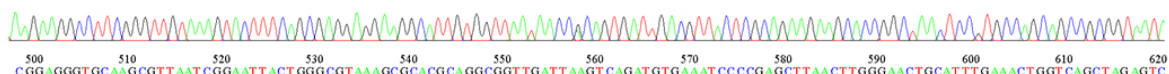
AAACGGTAGCTAATACCGCATGACGCTTTCGGACCAAGTGGGGGACCTTCGGGCGCTCACGCCATCAGATGTGCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCACGATC



TCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCCAGCCACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGACGCCATGCCGCGTGTATG



AAGAAAGGCTTCGGGTTGTAAGTACTTTTCAGCAGGAGGAGGCAATTGTGGTTAATTAACCGCAGTGATTGACGTACTCGCAGAAAGAGCAGCCGGCTTAACCTCCGTCCAGCAGCCGCGGTAAATA

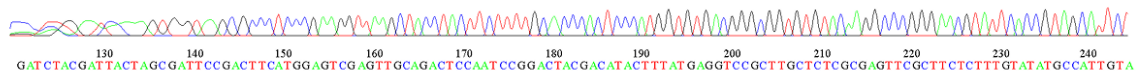


CGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTTGGGCGTAAAGCGCAGCAGGCGGTGATTAAAGTCAGATGTGAAATCCCGAGCTTAACCTTGGGAACTGCATTGAAACTGGTCAGCTAGAGTG

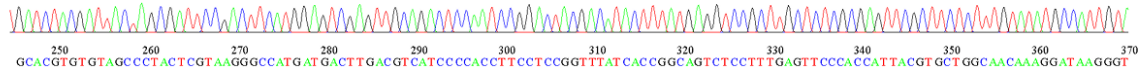
File: M18_1492R.ab1 Run Ended: 2023/7/11 2:46:30 Signal G:4997 A:6939 C:12357 T:9672
Sample: M18_1492R Lane: 14 Base spacing: 15.660255 1386 bases in 17297 scans Page 1 of 2



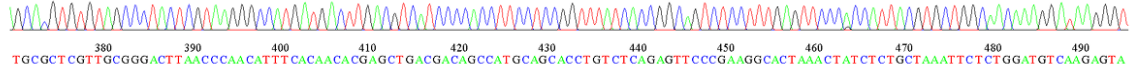
CA CTG ATCCAA GTG GTAGC GCCCTCCGAAAGGTTAAGCTACCTACTTCTTTTGC ACCCACTCCCATGGTGTGACGGCGGTGTGTACAAAGGCCGGGAACTATTCCAGGTAGCATTCT



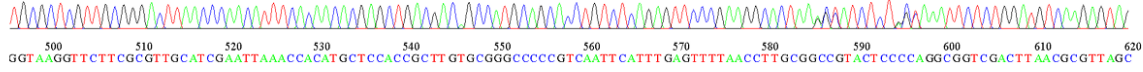
GATCTACGATTACTAGCGATTCCGACTTCATGGAGTTCGAGTTCGAGACTCCCAATCCGGACTACGACATCTTTATGAGGTCCGCTTGTCTCTCGGAGTTCGCTTCTCTTTGTATATGCCATTGTA



GCACGTGTGTAGCCCTACTCGTAAAGGCGATGATGACTTGACGTATCCCAACCTTCTCCGGTTTATCAGCGGAGTGTCTCTTGTAGTTCCCACTTACGTGCTGGCAACAAAGGATAAAGGGT



TGCGCTCGTTGCGGCACTTAACCAACATTTCAACAACGAGCTGACGACAGCCATGCAGCAGCTGTCTCAGAGTTCCCGAAGGCACATAAATCTATCTCTGCTAAATCTCTGGATGTCAGAGTA



GGTAAGGTTCTTCGCGTTTCATCGAATTAACACATGCTCCACCGCTTTCGCGGGCCCCCGCAATTCAATTTGAATTTTAACTTTCGCGCGGTACTCCCCAGCGGTGACTTAACGCGTTAGC

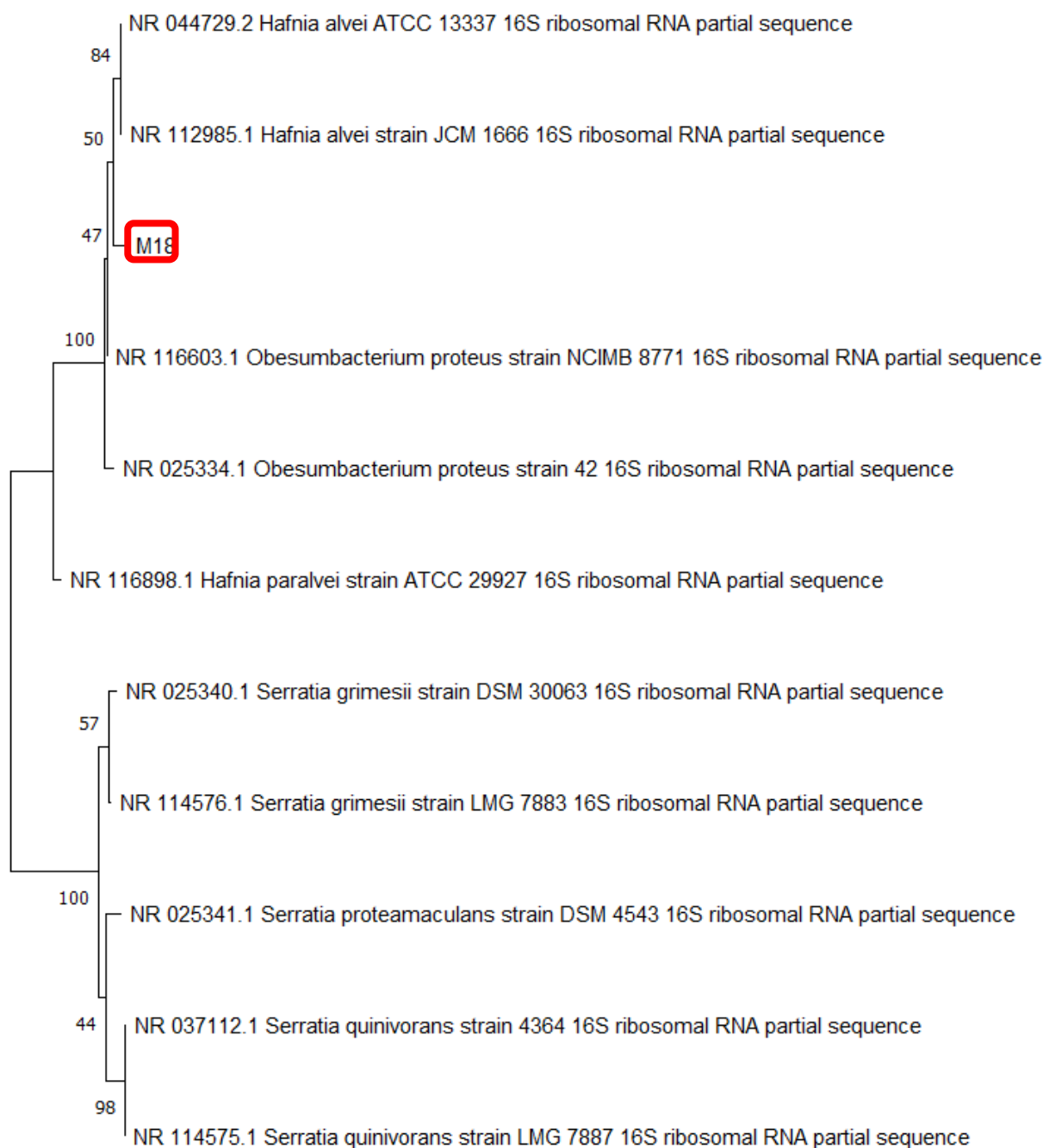


19.5. Análisis bioinformático del aislamiento M18

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
<u>Hafnia alvei strain JCM 1666 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia alvei</u>	100%	99.37%	1473	<u>NR_112985.1</u>
<u>Obesumbacterium proteus strain NCIMB 8771 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Obesumbacterium proteus</u>	100%	99.08%	1436	<u>NR_116603.1</u>
<u>Hafnia alvei ATCC 13337 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia alvei ATCC 13337</u>	100%	99.08%	1488	<u>NR_044729.2</u>
<u>Obesumbacterium proteus strain 42 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Obesumbacterium proteus</u>	100%	99.15%	1490	<u>NR_025334.1</u>
<u>Hafnia paralvei strain ATCC 29927 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia paralvei</u>	100%	98.52%	1495	<u>NR_116898.1</u>
<u>Serratia quinivorans strain 4364 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia quinivorans</u>	100%	97.61%	1508	<u>NR_037112.1</u>
<u>Serratia quinivorans strain LMG 7887 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia quinivorans</u>	100%	97.54%	1464	<u>NR_114575.1</u>
<u>Serratia proteamaculans strain DSM 4543 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia proteamaculans</u>	100%	97.47%	1502	<u>NR_025341.1</u>
<u>Serratia grimesii strain DSM 30063 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia grimesii</u>	100%	97.47%	1495	<u>NR_025340.1</u>
<u>Serratia grimesii strain LMG 7883 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia grimesii</u>	100%	97.40%	1461	<u>NR_114576.1</u>

19.6. Análisis filogenético del aislamiento M18



20. Secuencia del aislamiento M19

20.1. Forward_M19

TTGCTGCTTCGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAACTGCCTGATGGAGGG
GGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACCAAAGAGGGGGGACCTTC
GGGCTCTTGCCATCGGATGTGCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAACGGCTCACCTA
GGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAG
ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGC
CGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTTCAGCGGGGAGGAAGGCGACAGGGTT
AATAACCCTGTCGATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGC
GGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTCTG
TCAAGTCGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTGAAACTGGCAGGCTAGAG
TCTTGTAGAGGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATAC
CGGTGGCGAAGGCGGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAA
CAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTGACCTGGGAGGTTGTGCCCTTGA
GGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAA
AACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACG
CGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAACTTAGCAGAGATGCTTTGGTGCCTTCGGGAA
CTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTTGGGTAAAGTCCCGC
AACGAGCGCACCCCTTATCCTTGTTGCCAGCGGTTAGGCCGGGAACTCAAGGAGACTGCC

20.2. Reverse_M19

CAAGCCTGATGCAGCCCTGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTTCAGCG
GGGAGGAAGGCGACAGGGTTAATAACCCTGTTGATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGC
TAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGT
AAAGCGCACGCAGGCGGTCTGTCAAGTCGGATGTGAAATCCCCGGGGCTCAACCTGGGAACTG
CATTCGAAACTGGCAGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAAT
GCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAG
GTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTGCG
ACTTGAGAGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGG
GAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCAT
GTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAACTTAGCAGAG
ATGCTTTGGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTG
AAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTTAGGCCGG
GAACTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGG
CCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGA
GCAAGCGGACCTCATAAAGTGCGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGT
CGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGAATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACAC
CGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAG

20.3. Consenso_M19

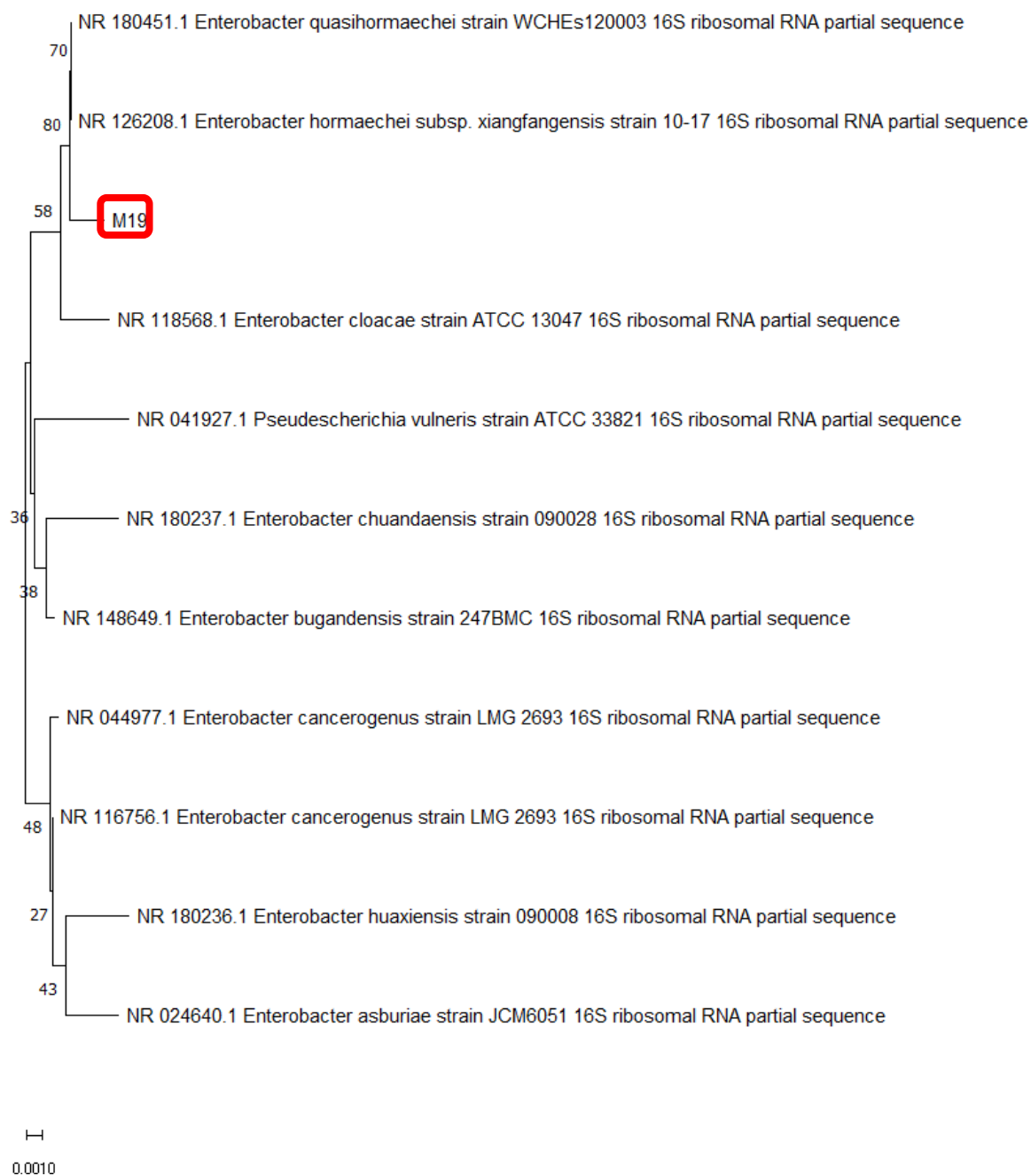
TTGCTGCTTCGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCC
TGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACGTGCGAA
GACCAAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCTTGCCATCGGATGTGCCCAGATGGGA
TTAGCTAGTAGGTGGGGTAACGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCT
GAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAGTGGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGA
GGCAGCAGTGGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCG
CGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTCAGCGGGGAGGAAGGC
GACAGGGTTAATAACCCTGTTTCGATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCT
AACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAAT
TACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTCTGTCAAGTCGGATGTGAAATCCCC
GGGGCTCAACCTGGGAAGTGCATTGAACTGGCAGGCTAGAGTCTTGTAGAG
GGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATA
CCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGC
GTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTC
GACTTGGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGT
CGACCGCCTGGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGG
GGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGCAACGCGAAGAACC
TTACCTACTCTTGACATCCAGAGAACTTAGCAGAGATGCTTTGGTGCCTTCGGG
AACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTTG
GGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTAGGCC
GGGAAGTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGT
CAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATA
CAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTGCGTCGTAGT
CCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTG
GATCAGAATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCA
CACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAG

20.5. Análisis bioinformático del aislamiento M19

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
<u>Enterobacter hormaechei subsp. xiangfangensis strain 10-17 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Enterobacter hormaechei subsp. xiangfangensis</u>	100%	99.34%	1429	<u>NR_126208.1</u>
<u>Enterobacter quasiormaechei strain WCHEs120003 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Enterobacter quasiormaechei</u>	100%	99.34%	1538	<u>NR_180451.1</u>
<u>Enterobacter cloacae strain ATCC 13047 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Enterobacter cloacae</u>	100%	98.97%	1369	<u>NR_118568.1</u>
<u>Enterobacter bugandensis strain 247BMC 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Enterobacter bugandensis</u>	100%	98.82%	1444	<u>NR_148649.1</u>
<u>Enterobacter chuandaensis strain 090028 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Enterobacter chuandaensis</u>	100%	98.67%	1528	<u>NR_180237.1</u>
<u>Enterobacter cancerogenus strain LMG 2693 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Enterobacter cancerogenus</u>	100%	98.52%	1495	<u>NR_044977.1</u>
<u>Pseudoscherichia vulneris strain ATCC 33821 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Pseudoscherichia vulneris</u>	99%	98.73%	1468	<u>NR_041927.1</u>
<u>Enterobacter cancerogenus strain LMG 2693 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Enterobacter cancerogenus</u>	98%	98.80%	1387	<u>NR_116756.1</u>
<u>Pseudoscherichia vulneris strain NBRC 102420 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Pseudoscherichia vulneris</u>	100%	98.37%	1465	<u>NR_114080.1</u>
<u>Enterobacter asburiae strain JCM6051 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Enterobacter asburiae</u>	99%	98.59%	1422	<u>NR_024640.1</u>

20.6. Análisis filogenético del aislamiento M19



21. Aislamiento M20

21.1. Forward_M20

GATGGCGCAGCTACACATGCAGTCGAGCGGTAACAGGAAGGAAGCTTGCTTTCTTTGCTGACGA
GCGGCGGAGGGTGAGTAATGCCTGGGAAATTGCCCTGATGTGGGGGATAACCATTGGAACGAT
GCTAAACCGCAAGATGCCACGGGCCAAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCTCGCGTCAAGATCT
GCCCAGGTGGGATTAGCTCGTTTGTGAGGTAATGGCTCATCAGGGCAACGATCCCTAGCTGGTC
TGAGAGGATGATGACCCACACTGGAAGTACACACGGTCCACACTCCCACGGGAGGCAGCCGT
GGGGAATATTGCACTGTGGGCGCAAGCCTGATGCACCCATGCCGCGTGTATCAAAAACGCCTTC
GGTTGTAAAGTATTTTCTTTCTGAGGAATGGGGTATCGTTAAAAGCGGTATTCTTTGACGTTTG
CGACAGAAAAATCACCGGCAAACCTCCGTGCCAGCCCCCGCGGTGATACCGAGGGTGCGAGCGT
TAATCGGAATTACGGGGCGTAAAGCGCACGCGCGTGGTTTGTTAACTCATATGTGAAAGCCCGG
GGCTCAACCTCGGAGTTGCATTTGACACTGGTGCGCTAGAGTACTGTAGAGGGGGGGTAGAATT
TCGGGGTGGTGCAATTAATGTGTAGAGATGTAAAGAGAATACCGGGTGAAAAGAGCCCCC
CCCTGGACAGATACCGACTCTCATATGCGAGAGCGTGGGGAGCAAACGGGATTAGATCCCCTGG
TACTCCACGCTCTAGACGATCTCTACTTGGGATGTTGTGGCCTTGAGCCGTGTCTCTTAGAGCT
AACGCTTTAAGTACACCGCCGGGAGAATACCGTCCCGAGGATTACACTCACATGAATTGACGGG
CGCCCGCACAAGCGGTGGAGCAGGTGGTTTTATTCGATGCACGCGATAACTTACCTACTCTAGA
CTACTACAGATCAGCTGAGACGCATGAGTGCCATACGGG

21.2. Reverse_M20

CATTGACACAAAGTGGCAGCGTCCTCCCGAAGGTTAACTACACTGCTTCTTTTGCAGCCCACTC
CCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGTGGCATTCTGATCCAC
GATTACTAGCGATTCCGACTTCATGGAGTCGAGTTGCAGACTCCAATCCGGACTACGACGCACTT
TTTGGGATTCGCTCACTATCGCTAGCTCGCCGCCCTCTGTATGCGCCATTGTAGCACGTGTGTAG
CCCTACTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCGTCCCCACCTTCCTCCGGTTTATCACCGGCAG
TCTCCCTGGAGTTCCCGACATTACTCGCTGGCAAACAAGGATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGA
CTTAACCCAACATTTACAAACACGAGCTGACGACAGCCATGCAGCACCTGTCTTACAGTTCCCGA
AGGCACTCCCGCGTCTCCGCAGGATCCTGTGGATGTCAAGAGTAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGC
ATCGAATTAACACCATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCATTTGAGTTTTAATCTT
GCGACCGTACTCCCCAGGCGGTCTACTTAACGCGTTAGCTCCGAAAGCCACGGCTCAAGGCCAC
AACCTCCAAGTAGACATCGTTTACAGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCAC
GCTTTCGCATCTGAGTGTGAGTATCTGTCCAGGGGGCCGCCTTCGCCACCGGTATTCTTCAGAT
CTCTACGCATTTACCGCTACACCTGAAATTCTACCCCCCTCTACAGTACTCTAGCCTGCCAGTTT
CAAATGCAACTCCCAGGTTGAGCTCCGGGCTTTCACATCTGACTTAACAAACCACCTGCATGCGC
TTTACGCCCAGTAATTCCGATTAACGCTCGCACCCCTCCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGGATT
TAGCCGGTGCTTCTTCTGTCGCTAACGTCAAAGAATACCGCTATTAACGATACCGCCTTCCTCAC
GACTGAAAGTAC

21.3. Consenso_M20

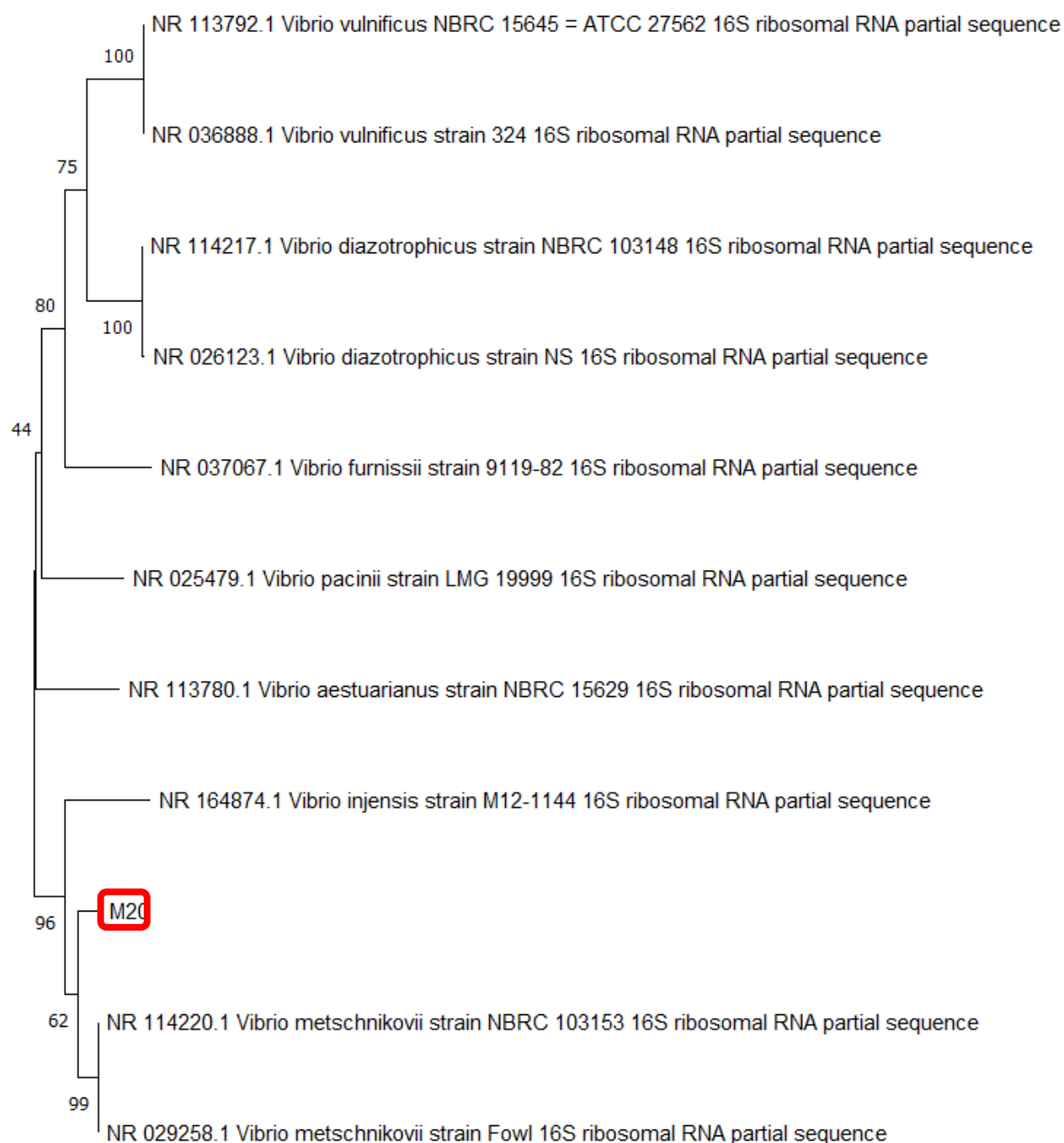
GGGAATTTTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCCTGCCGCGTGTTTGAA
GAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTCAGTCGTGAGGAAGGCGGTATCGTTAA
TAGCGGTATTCTTTGACGTTAGCGACAGAAGAAGCACCGGCTAAATCCGTGCCA
GCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCGAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAA
AGCGCATGCAGGTGGTTTGTAAAGTCAGATGTGAAAGCCCGGAGCTCAACCTG
GGAGTTGCATTTGAAACTGGCAGGCTAGAGTACTGTAGAGGGGGGTAGAATTTT
AGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGAAGGAATACCGGTGGCGAAGGCG
GCCCCCTGGACAGATACTGACACTCAGATGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGG
ATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCTACTTGGAGGTTGTGGC
CTTGAGCCGTGGCTTTTCGGAGCTAACGCGTTAAGTAGACCGCCTGGGGAGTAC
GGTCGCAAGATTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGA
GCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAC
AGGATCCTGCGGAGACGCGGGAGTGCCTTCGGGAAGTGTAAAGACAGGTGCTG
CATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGC
GCAACCCTTATCCTTGTTTGCCAGCGAGTAATGTCGGGAAGTCCAGGGAGACTG
CCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTA
CGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATACAGAGGGCGGCGAGCTAG
CGATAGTGAGCGAATCCCCAAAAGTGCGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAA
CTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGAATGCCACGGTG
AATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGCTG
CAAAAGAAGCAGTGTAGTTTAACCTTCGGGAGGACGCTGCCACT

21.5. Análisis bioinformático del aislamiento M20

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
<u>Vibrio metschnikovii strain NBRC 103153 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Vibrio metschnikovii</u>	100%	99.10%	1486	<u>NR_114220.1</u>
<u>Vibrio metschnikovii strain Fowl 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Vibrio metschnikovii</u>	95%	99.15%	1433	<u>NR_029258.1</u>
<u>Vibrio injensis strain M12-1144 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Vibrio injensis</u>	100%	97.58%	1428	<u>NR_164874.1</u>
<u>Vibrio diazotrophicus strain NBRC 103148 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Vibrio diazotrophicus</u>	100%	97.30%	1468	<u>NR_114217.1</u>
<u>Vibrio pacinii strain LMG 19999 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Vibrio pacinii</u>	100%	97.12%	1494	<u>NR_025479.1</u>
<u>Vibrio aestuarianus strain NBRC 15629 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Vibrio aestuarianus</u>	100%	97.13%	1472	<u>NR_113780.1</u>
<u>Vibrio diazotrophicus strain NS 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Vibrio diazotrophicus</u>	99%	97.28%	1456	<u>NR_026123.1</u>
<u>Vibrio vulnificus strain 324 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Vibrio vulnificus</u>	100%	97.04%	1536	<u>NR_036888.1</u>
<u>Vibrio vulnificus NBRC 15645 = ATCC 27562 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Vibrio vulnificus NBRC 15645 = ATCC 27562</u>	100%	97.04%	1468	<u>NR_113792.1</u>
<u>Vibrio furnissii strain 9119-82 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Vibrio furnissii</u>	100%	96.95%	1546	<u>NR_037067.1</u>

21.6. Análisis filogenético del aislamiento M20



22. Secuencia del aislamiento M21

22.1. Forward_M21

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAGGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGGACGGGTGAGTA
ATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATGAC
GTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAG
CTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGC
CACACTGGAAGTGAACACGCTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAAT
GGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTT
CAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCAC
CGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGG
GCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAAC
TGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAA
ATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTC
AGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGT
CGACTTGAGAGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGG
GGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCA
TGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTGCTAGAG
ATGCTTTAGTGCCTTCGGGACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAA
ATGTTGGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTGTTGCCGCACGTAATGGTGGA
ACTCAAAGGAGACTGC

22.2. Reverse_M21

AAGCCTGATGCAGCCCTGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTTTCGGGTTGTAAAGTACTTTTCAGCG
AGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCT
AACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTA
AAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAAGTGCATT
TGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGT
AGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGC
GAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGACTT
GGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGT
ACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGT
TTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTAGCAGAGATAGCT
TAGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTT
GGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGAAGTCTC
AAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTA
CGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGC
GGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATC
GCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTC
ACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCTACCAC

22.3. Consenso_M21

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAGGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGG
ACGGGTGAGTAATGTCTGGGAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAA
ACGGTAGCTAATAACCGCATGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGC
CTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGC
TCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGA
ACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACA
ATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTTCGGG
TTGTAAAGTACTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGAT
TGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTA
ATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGG
CGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTG
AACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGT
GAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGAC
AAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCC
TGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTGCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGT
GGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAG
GTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGT
TTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTAG
CAGAGATAGCTTAGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTC
GTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTT
ATCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATA
AACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGG
CTACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAG
CGGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCAT
GAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCC
GGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTA
GGTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCTACCAC

El aislamiento codificado como M21 fue analizado a través de secuenciamiento Sanger mediante el secuenciador automático ABI que traduce señales fluorescentes en la secuencia de bases correspondientes.

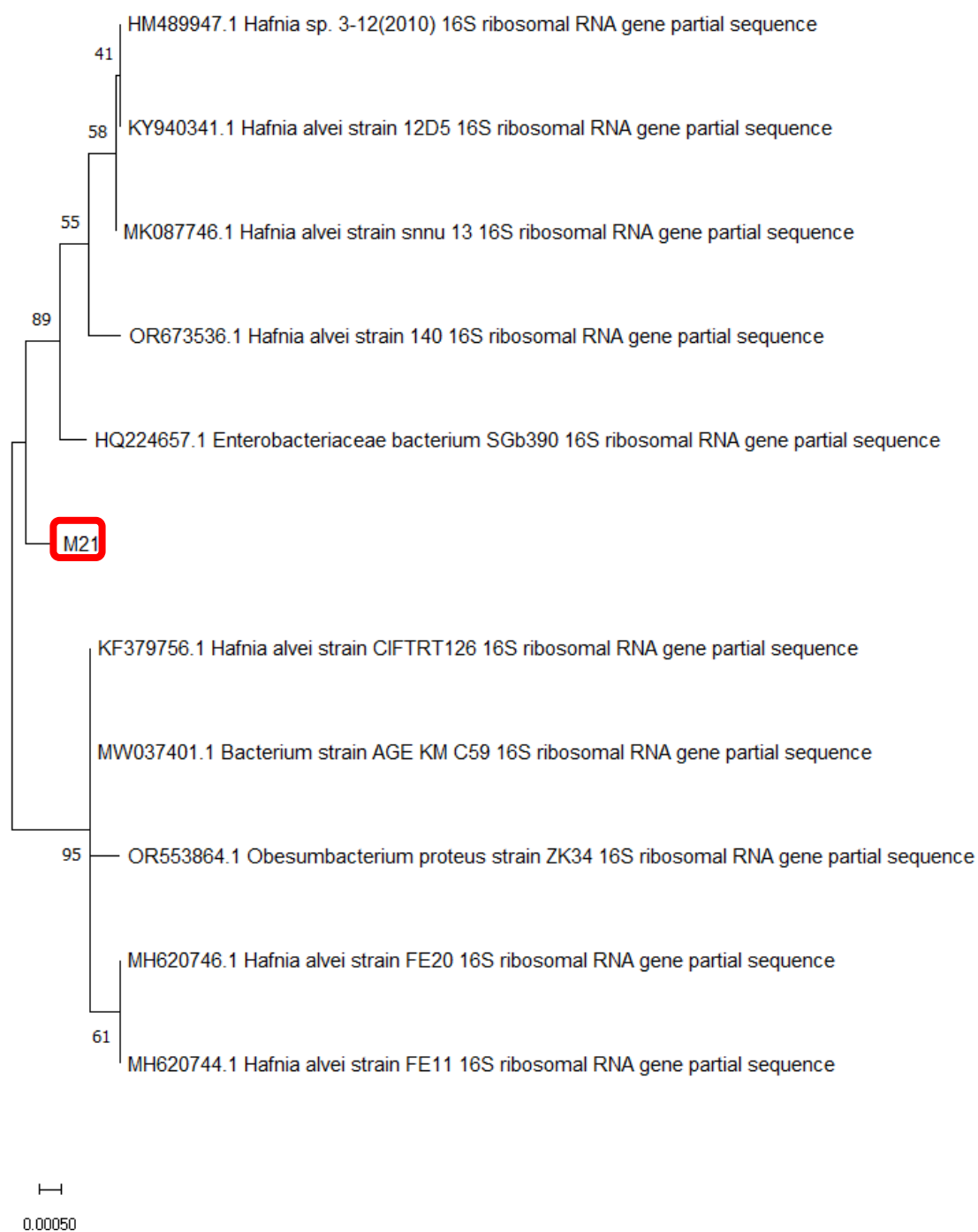


22.5. Análisis bioinformático del aislamiento M21

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
Hafnia alvei strain JCM 1666 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia alvei	100%	99.37%	1473	NR_112985.1
Obesumbacterium proteus strain NCIMB 8771 16S ribosomal RNA, partial sequence	Obesumbacterium proteus	100%	99.08%	1436	NR_116603.1
Obesumbacterium proteus strain 42 16S ribosomal RNA, partial sequence	Obesumbacterium proteus	100%	99.22%	1490	NR_025334.1
Hafnia alvei ATCC 13337 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia alvei ATCC 13337	100%	99.08%	1488	NR_044729.2
Hafnia paralvei strain ATCC 29927 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia paralvei	100%	98.59%	1495	NR_116898.1
Serratia quinivorans strain 4364 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia quinivorans	100%	97.82%	1508	NR_037112.1
Serratia quinivorans strain LMG 7887 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia quinivorans	100%	97.75%	1464	NR_114575.1
Serratia proteamaculans strain DSM 4543 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia proteamaculans	100%	97.68%	1502	NR_025341.1
Serratia grimesii strain DSM 30063 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia grimesii	100%	97.68%	1495	NR_025340.1
Serratia liquefaciens strain ATCC 27592 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia liquefaciens	100%	97.61%	1544	NR_122057.1

22.6. Análisis filogenético del aislamiento M21



23. Secuencia del aislamiento M22

23.1. Forward_M22

GGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATA
CCGCATGACGTCTTCGGACCAAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCTCGCCATCGGATGTGCCAG
ATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAG
GATGACCAGCCACACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAA
TATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTG
TAAAGTACTTTTCAGCGGGGAGGAAGGCGATGTGGTTAATAACCCTGTTGATTGACGTTACTCGCA
GAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATC
GGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTCGGTTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGGCTC
AACTTGGGAAGTGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTG
TAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAG
ACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTG
TAAACGATGTGCACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTC
GACCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAAG
CGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACTTCCCGAGA
ATTTGCAGAGATGCTTT

23.2. Reverse_M22

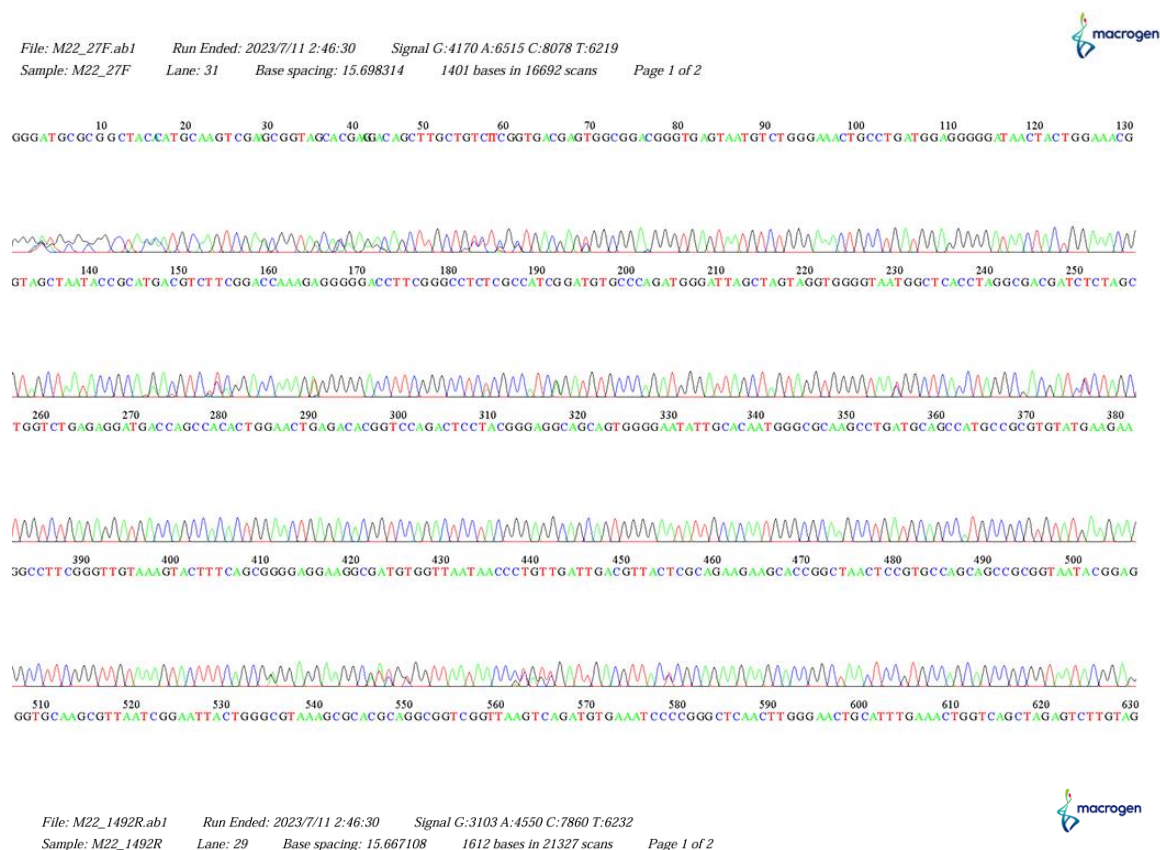
CTCTGATCCAAGTGGTAAGCGCCCTCCCGAAGGTTAAGCTACCTACTTCTTTTGCAACCCACTCC
CATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGTGGCATTCTGATCTACG
ATTACTAGCGATTCCGACTTCATGGAGTCGAGTTGCAGACTCCAATCCGGACTACGACATACTTT
ATGAGGTCCGCTTGCTCTCGCGAGGTCGCTTCTCTTTGTATGTGCCATTGTAGCACGTGTGTAGC
CCTACTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCAATCCACCTTCTCCGGTTTATCACCGGCAGT
CTCCTTTGAGTTCCCGGCCTTACCTGTTGGCAACAAAGGAAAAGGGTGGCCCTCTTTGCGGAATT
TAACCCAACATTTCAAACACAAGTTAACAACGGCCTGGCACAACCGGTTTAAAATTTCCCAAAGG
CCCTAAGCAATTTTTCTAAAATTCTTTGAATTTTCAAGTAAGGTTTTCCTTTGCACCAAA
TTAAACCAAAGGTTCCACGGTTGGGGCGGGCCCCCTTCAATTCATTTAATTTAAACCTGGCGGC
CTAATCCCCCAGGCGGCCAACTTAACCCTTTACTTCCGAAACCAACGCCCCAGGGGCACAACCC
CCAATTCAACTTCGTTAACGGCTGGAACAACCAGGGTATCTAACCCGGTTGGTTCCCCAGCCTTT
CGCACCTAGACCTTCATCTCTTGGTCCAGGGGGGCGCCTTCGCCACCGGTTTTTCCCTCCGAA
ATCTCTAACCCATTTACGCGTTTACACCTGGAAATTTCTACCCCCCTCTCTACAGAAATCTCTGC
CCTGGACCAAGTTTCCAAAAGGCAGTTTCCAAGGTTGAAGCCTCGGGGGAATTTCCACATCCTGA
ACTTGACTCAACCCGCCGGGCGTGGCGCTTTTACGCCCCAGTAAATTTCCCAAATTAACGCTTG
GCACCCCTCCCGTAATTAACCGGCGGCCTGCTGGGGCACGGAAATTTAGCCGGGTGCTTCCTC
CTGGCGGAGTAACGTCAAATCAACAGGGGGGTATTAACCAACCGAAGCCCTTCCCTTCCC

23.3. Consenso_M22

GGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAAC
GGTAGCTAATACCGCATGACGTCTTCGGACCAAAGAGGGGGACCTTCGGGCCT
CTCGCCATCGGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGCTC
ACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAC
TGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAAT
GGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTG
TAAAGTACTTTTCAGCGGGGAGGAAGGCGATGTGGTTAATAACCCTGTTGATTGA
CGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATA
CGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCG
GTCGGTTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACTTGGGAACTGCATTTGAA
ACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGA
AATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAA
GACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGG
TAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGC
TTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTA
AAACTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAA
TTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACTTCCCGAGAATTTGCAGA
GATGCTTT

23.4. Electroferograma del aislamiento M22

El aislamiento codificado como M22 fue analizado a través de secuenciamiento Sanger mediante el secuenciador automático ABI que traduce señales fluorescentes en la secuencia de bases correspondientes.

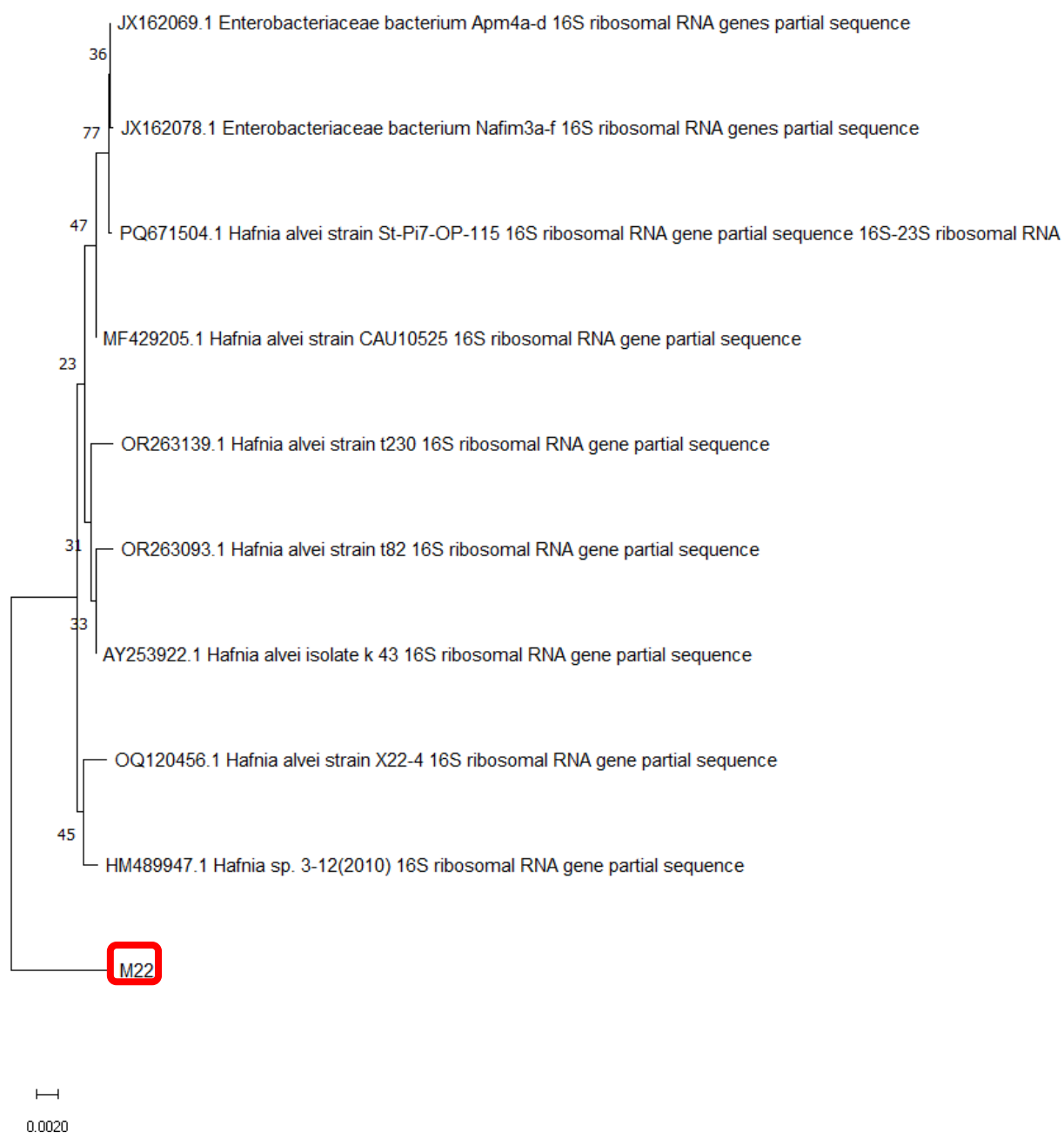


23.5. Análisis bioinformático del aislamiento M22

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
<u>Hafnia alvei strain JCM 1666 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia alvei</u>	100%	98.14%	1473	<u>NR_112985.1</u>
<u>Obesumbacterium proteus strain 42 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Obesumbacterium proteus</u>	100%	98.13%	1490	<u>NR_025334.1</u>
<u>Hafnia alvei ATCC 13337 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia alvei ATCC 13337</u>	100%	97.81%	1488	<u>NR_044729.2</u>
<u>Hafnia paralvei strain ATCC 29927 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia paralvei</u>	100%	97.59%	1495	<u>NR_116898.1</u>
<u>Obesumbacterium proteus strain NCIMB 8771 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Obesumbacterium proteus</u>	99%	98.22%	1436	<u>NR_116603.1</u>
<u>Scandinavium goeteborgense strain CCUG 66741 16S ribosomal RNA, complete sequence</u>	<u>Scandinavium goeteborgense</u>	100%	97.48%	1542	<u>NR_180446.1</u>
<u>Enterobacter hormaechei subsp. xiangfangensis strain 10-17 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Enterobacter hormaechei subsp. xiangfangensis</u>	100%	97.26%	1429	<u>NR_126208.1</u>
<u>Pseudodescherichia vulneris strain NBRC 102420 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Pseudodescherichia vulneris</u>	100%	97.26%	1465	<u>NR_114080.1</u>
<u>Yersinia enterocolitica subsp. palearctica strain Y11 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Yersinia enterocolitica subsp. palearctica</u>	100%	97.26%	1480	<u>NR_104903.1</u>
<u>Yersinia enterocolitica subsp. palearctica strain DSM 13030 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Yersinia enterocolitica subsp. palearctica</u>	100%	97.26%	1484	<u>NR_116786.1</u>

23.6. Análisis filogenético del aislamiento M22



24. Secuencia del aislamiento M23

24.1. Forward_M23

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGGACGGGTGAGTA
ATGTCTGGGAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATGAC
GTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAG
CTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGC
CACACTGGAAGTGAACACGCTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAAT
GGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTT
CAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCAC
CGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGG
GCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAAC
TGCATTTGAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAA
ATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTC
AGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGT
CGACTTGAGAGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGG
GGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCA
TGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACTTCCCGAGAATTTGCTAGAG
ATGCTTTAGTGCCTTCGGGACTCTGAGACGGTGCTGCATGGCTGTCGTCCGCTCGGGTTGTGAA
TGTTTGGGTTAATCCCCGCACGAGGGCACCTTATCCTTGTTG

24.2. Reverse_M23

GGGAATTTTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCCTGCCGCGTGTATGAAGAAGCCTTTTCG
GGTTGTAAAGTACTTTAAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCACAGTGATTGACGTTAC
TCGCAGAAGGAGCACC GGCTAATTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGT
TTATTGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGA
GCTTAACTTGGGAAGTGCATTTGAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGAGAGGGGGGTAGAATTCCA
GGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGAC
AAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCAC
GCTGTAAACGATGTCGACTTGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTA
AGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCA
CAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCA
GAGAATTTAGTAGAGATAGTTTAGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGT
CAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCA
GCACGTAATGGTGGGAAGTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGAC
GTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAA
GCGAACTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGATTGGAGTCTGCAACT
CGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGG
GCCTTGACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAGAAGTAGGTAGCTTAACCT
TCGGGAGGGCGC

24.3. Consenso_M23

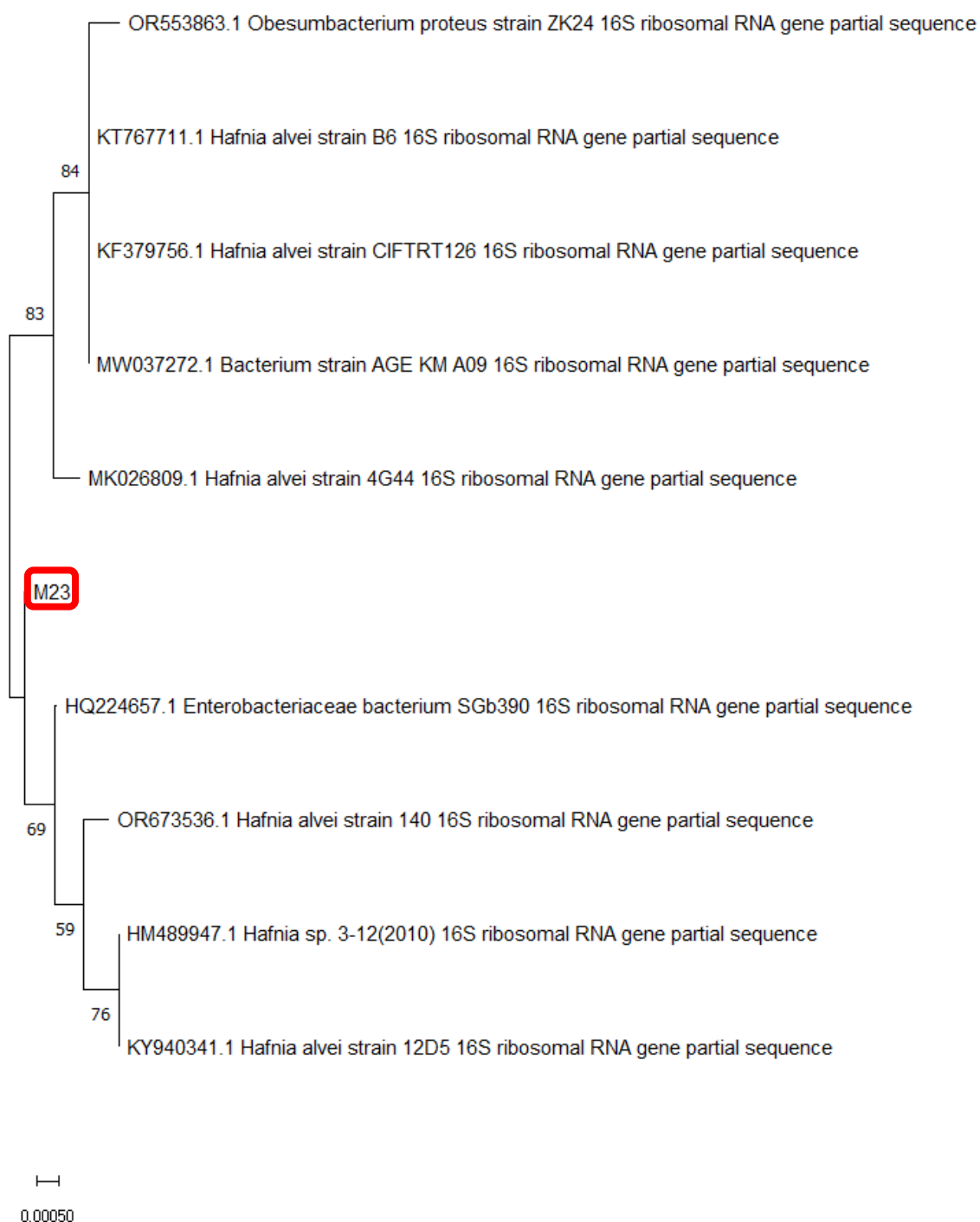
TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGG
ACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAA
ACGGTAGCTAATAACCGCATGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGC
CTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGC
TCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGA
ACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACA
ATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGT
TGTAAGTACTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATT
GACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAA
TACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGC
GGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGA
AACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTG
AAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATAACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAA
AGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTG
GTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGG
CTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTT
AAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTA
ATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTAGTAG
AGATAGTTTAGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGCA
GCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCT
TTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACC
GGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTAC
ACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGCGG
ACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAA
GTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGG
CCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGT
AGCTTAACCTTCGGGAGGGCGC

24.5. Análisis bioinformático del aislamiento M23

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
Hafnia alvei strain JCM 1666 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia alvei	100%	99.57%	1473	NR_112985.1
Obesumbacterium proteus strain NCIMB 8771 16S ribosomal RNA, partial sequence	Obesumbacterium proteus	100%	99.36%	1436	NR_116603.1
Hafnia alvei ATCC 13337 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia alvei ATCC 13337	100%	99.29%	1488	NR_044729.2
Obesumbacterium proteus strain 42 16S ribosomal RNA, partial sequence	Obesumbacterium proteus	100%	99.36%	1490	NR_025334.1
Hafnia paralvei strain ATCC 29927 16S ribosomal RNA, partial sequence	Hafnia paralvei	100%	98.79%	1495	NR_116898.1
Serratia quinivorans strain 4364 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia quinivorans	100%	97.87%	1508	NR_037112.1
Serratia quinivorans strain LMG 7887 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia quinivorans	100%	97.80%	1464	NR_114575.1
Serratia proteamaculans strain DSM 4543 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia proteamaculans	100%	97.73%	1502	NR_025341.1
Serratia grimesii strain DSM 30063 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia grimesii	100%	97.73%	1495	NR_025340.1
Serratia grimesii strain LMG 7883 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia grimesii	100%	97.66%	1461	NR_114576.1

24.6. Análisis filogenético del aislamiento M23



25. Secuencia del aislamiento M25

25.1. Forward_M25

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGGACGGGTGAGTA
ATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATGAC
GTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAG
CTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGC
CACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAAT
GGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTT
CAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCAC
CGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGG
GCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAAC
TGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAA
ATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTC
AGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGT
CGACTTGAGAGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGG
GGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCA
TGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTGCTAGAG
ATGCTTTAGTGCCTTCGGGACTCTGAGACGGTGCTGCATGCTGTCGTCAGCTCGGGTTGTGAAAT
GGTTGGGGTTAAGTCCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTGTTGCCGCACGTAATGGTGGGAA
TCAAAGGAGA

25.2. Reverse_M25

GGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTTTGAAGAAGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTCA
GCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCG
GCTAATTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCCAGCGTTTATCGGAATTACTGGGC
GTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAAGT
CATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAAT
GCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAG
GTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTGCG
ACTTGAGAGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGG
GAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCAT
GTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTAGCAGAG
ATAGCTTAGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTTGT
AAATGTTGGGTAAAGTCCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGG
GAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGG
CCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGA
GCAAGCGGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTC
GGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTTACACACCG

CCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCTAC
CA

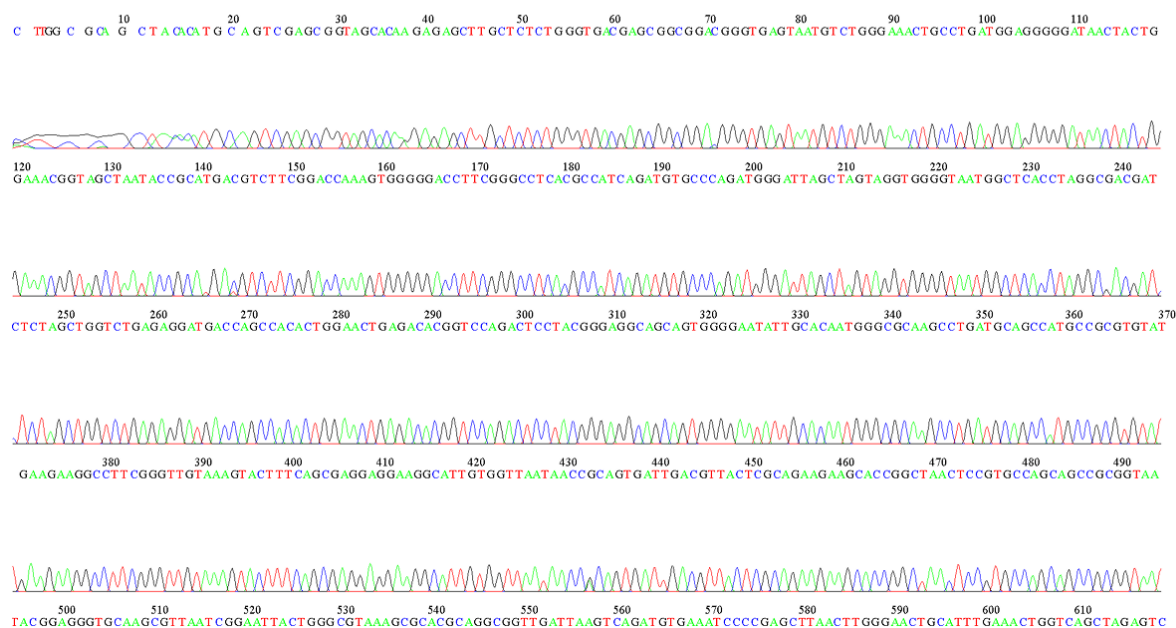
25.3. Consenso_M25

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGG
ACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGGATAACTACTGGAA
ACGGTAGCTAATAACCGCATGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGC
CTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGC
TCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGA
ACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACA
ATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGT
TGTAAGTACTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATT
GACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAA
TACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGC
GGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACCTTGGGAACTGCATTTGA
AACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTG
AAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATAACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAA
AGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTG
GTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTG
CTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTT
AAAAC TCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTA
ATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTAGCA
GAGATAGCTTAGTGCCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGT
CAGCTCGTGTTGTGAAATGGTTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTA
TCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAA
ACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGC
TACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGC
GGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATG
AAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCG
GGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAG
GTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCTACCA

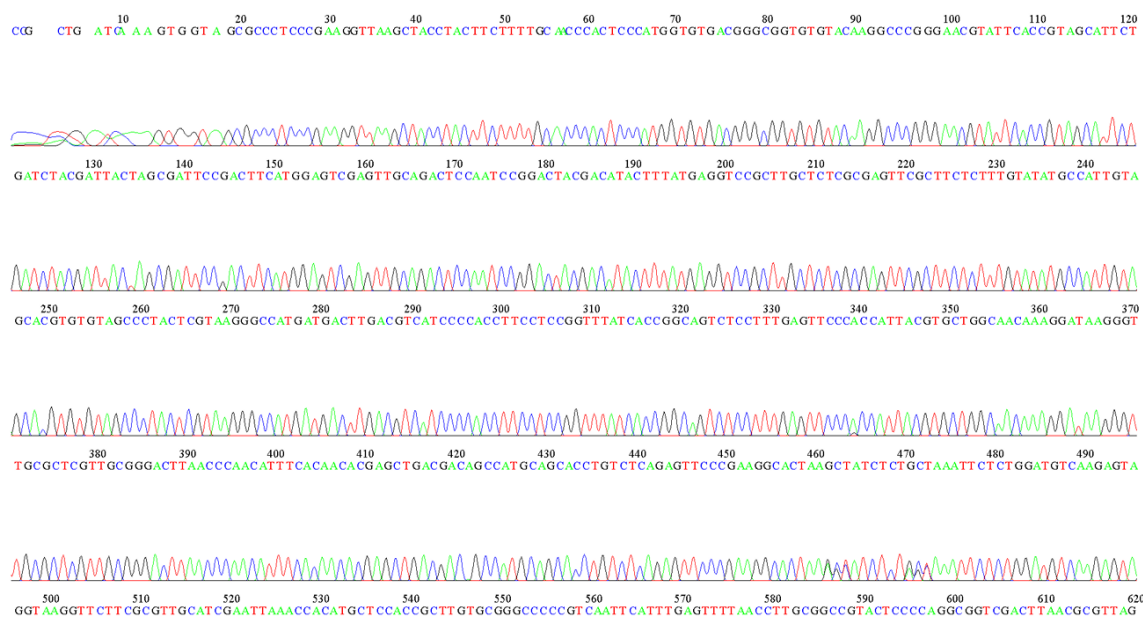
25.4. Electroferograma del aislamiento M25

El aislamiento codificado como M25 fue analizado a través de secuenciamiento Sanger mediante el secuenciador automático ABI que traduce señales fluorescentes en la secuencia de bases correspondientes.

File: M25_27F.ab1 Run Ended: 2023/7/11 2:46:30 Signal G:4251 A:6863 C:8017 T:6574
Sample: M25_27F Lane: 23 Base spacing: 15.536753 1420 bases in 17239 scans Page 1 of 2



File: M25_1492R.ab1 Run Ended: 2023/7/11 2:46:30 Signal G:3001 A:4493 C:7786 T:6863
Sample: M25_1492R Lane: 21 Base spacing: 15.714458 1406 bases in 16810 scans Page 1 of 2

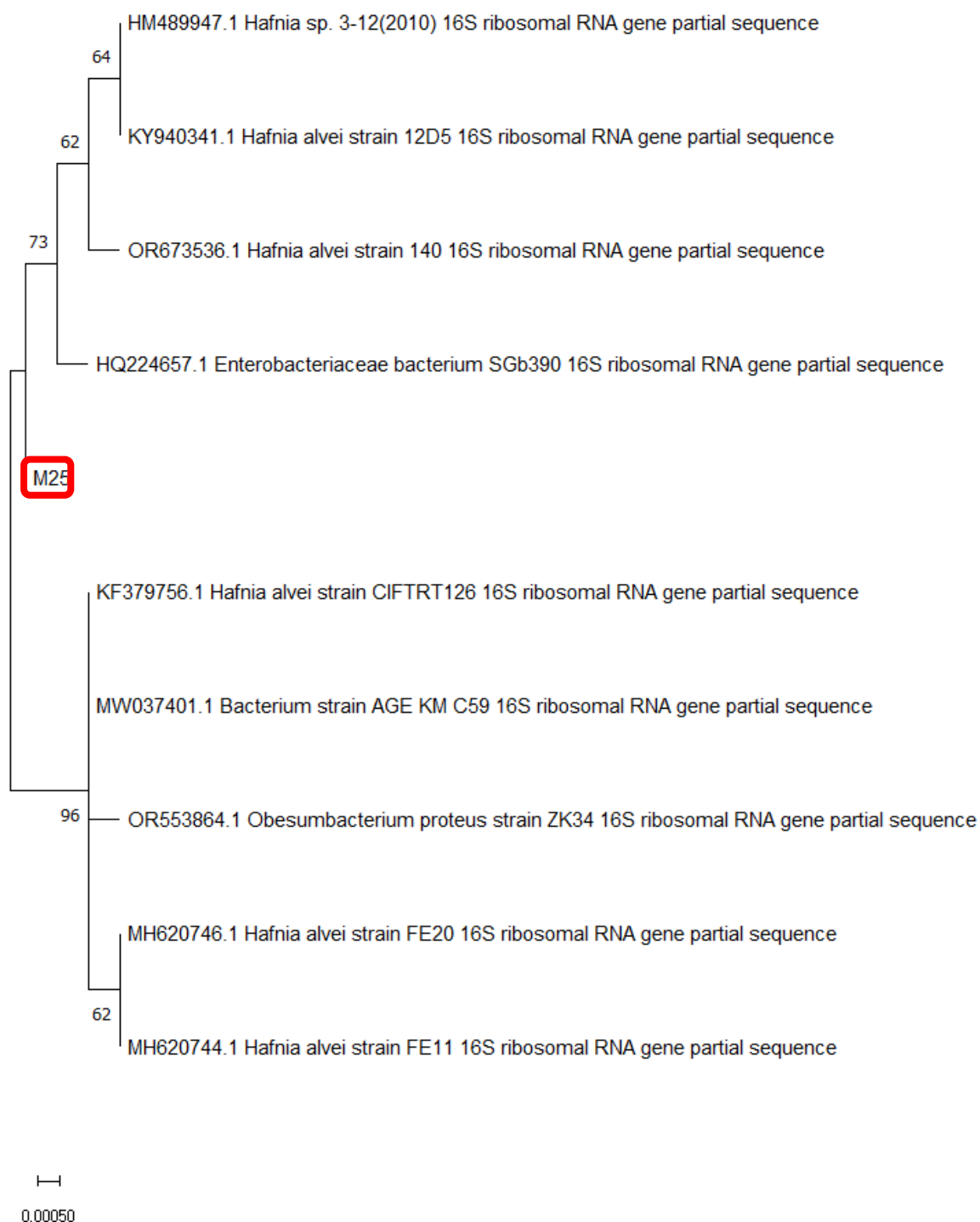


25.5. Análisis bioinformático del aislamiento M25

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
Hafnia alvei strain JCM 1666 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Hafnia alvei</i>	100%	99.44%	1473	NR_112985.1
Obesumbacterium proteus strain NCIMB 8771 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Obesumbacterium proteus</i>	100%	99.15%	1436	NR_116603.1
Obesumbacterium proteus strain 42 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Obesumbacterium proteus</i>	100%	99.29%	1490	NR_025334.1
Hafnia alvei ATCC 13337 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Hafnia alvei</i> ATCC 13337	100%	99.15%	1488	NR_044729.2
Hafnia paralvei strain ATCC 29927 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Hafnia paralvei</i>	100%	98.66%	1495	NR_116898.1
Serratia quinivorans strain 4364 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia quinivorans</i>	100%	97.74%	1508	NR_037112.1
Serratia quinivorans strain LMG 7887 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia quinivorans</i>	100%	97.68%	1464	NR_114575.1
Serratia proteamaculans strain DSM 4543 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia proteamaculans</i>	100%	97.60%	1502	NR_025341.1
Serratia grimesii strain DSM 30063 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia grimesii</i>	100%	97.60%	1495	NR_025340.1
Serratia grimesii strain NBRC 13537 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia grimesii</i>	100%	97.39%	1468	NR_113616.1

25.6. Análisis filogenético del aislamiento M25



26. Secuencia del alineamiento M28

26.1. Forward_M28

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGGACGGGTGAGTA
ATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATGAC
GTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAG
CTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGC
CACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAAT
GGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTT
CAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCAC
CGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGG
GCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAAC
TGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGGTAGAATTCCGGGTGTAGCGGTGA
AATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCT
CAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATG
TCGACCTGGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCC
CGGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGG
AGCCAGGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACTTCCGGAGAATTG
CTAGAGATGCTTTAGTGCCTTCGGGACTCTGAGACAGTGCTGC

26.2. Reverse_M28

GAAGAAGCCTTGGGGTTGTAAAGTACTTTAAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCA
GTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAATTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGG
AGGGTGCCAGCGTTTATTGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCCGCGGTTGATTAAGTCAGA
TGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGG
GGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAG
GCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT
ACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCC
GGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATT
GACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACC
TACTCTTGACATCCAGAGAATTTAGCAGAGATAGCTTAGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTG
CTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCC
TTATCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAG
GAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATG
GCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGG
ATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACG
GTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAA
GTAGGTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCTACCAC

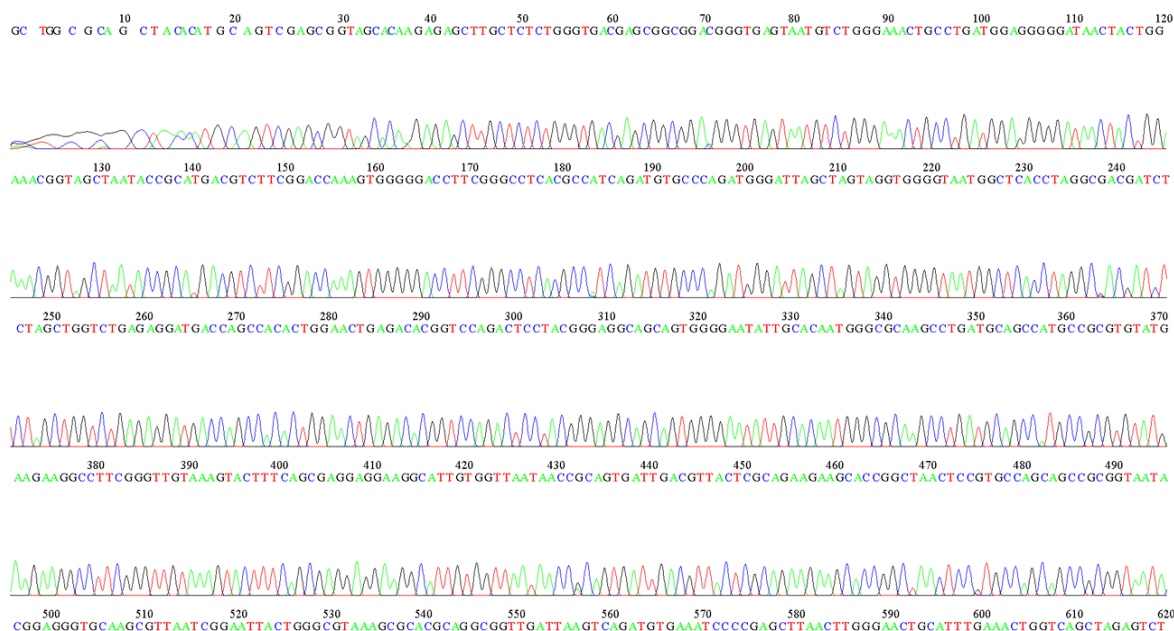
26.3. Consenso_M28

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGG
ACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAA
ACGGTAGCTAATAACCGCATGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGC
CTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGC
TCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGA
ACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACA
ATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGT
TGTAAGTACTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATT
GACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAA
TACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGC
GGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGA
AACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGGTAGAATTCCGGGTGTAGCGGT
GAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGAC
AAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCC
TGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTGCGACTTGGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCG
TGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGGAGTACGGCCGCAA
GGTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCCATGTG
GTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTT
AGCAGAGATAGCTTAGTGCCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTG
TCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCT
TATCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGAT
AAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGG
GCTACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAA
GCGGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCA
TGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCC
CGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGT
AGGTAGCTTAACCTTCGGGAGGGGCGCTACCAC

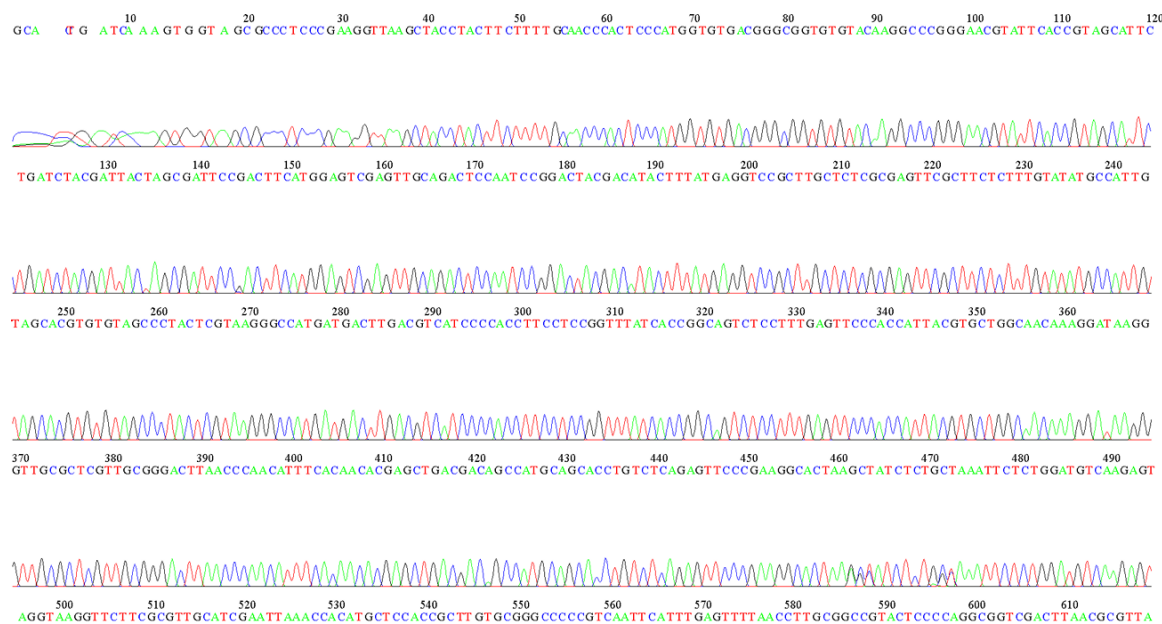
26.4. Electroferograma del aislamiento 28

El aislamiento codificado como M28 fue analizado a través de secuenciamiento Sanger mediante el secuenciador automático ABI que traduce señales fluorescentes en la secuencia de bases correspondientes.

File: M28_27F.ab1 Run Ended: 2023/7/11 2:46:30 Signal G:3192 A:5931 C:6604 T:6290
Sample: M28_27F Lane: 19 Base spacing: 15.618836 1389 bases in 16805 scans Page 1 of 2



File: M28_1492R.ab1 Run Ended: 2023/7/11 2:46:30 Signal G:2517 A:4195 C:7091 T:6339
Sample: M28_1492R Lane: 17 Base spacing: 15.85213 1346 bases in 16119 scans Page 1 of 2

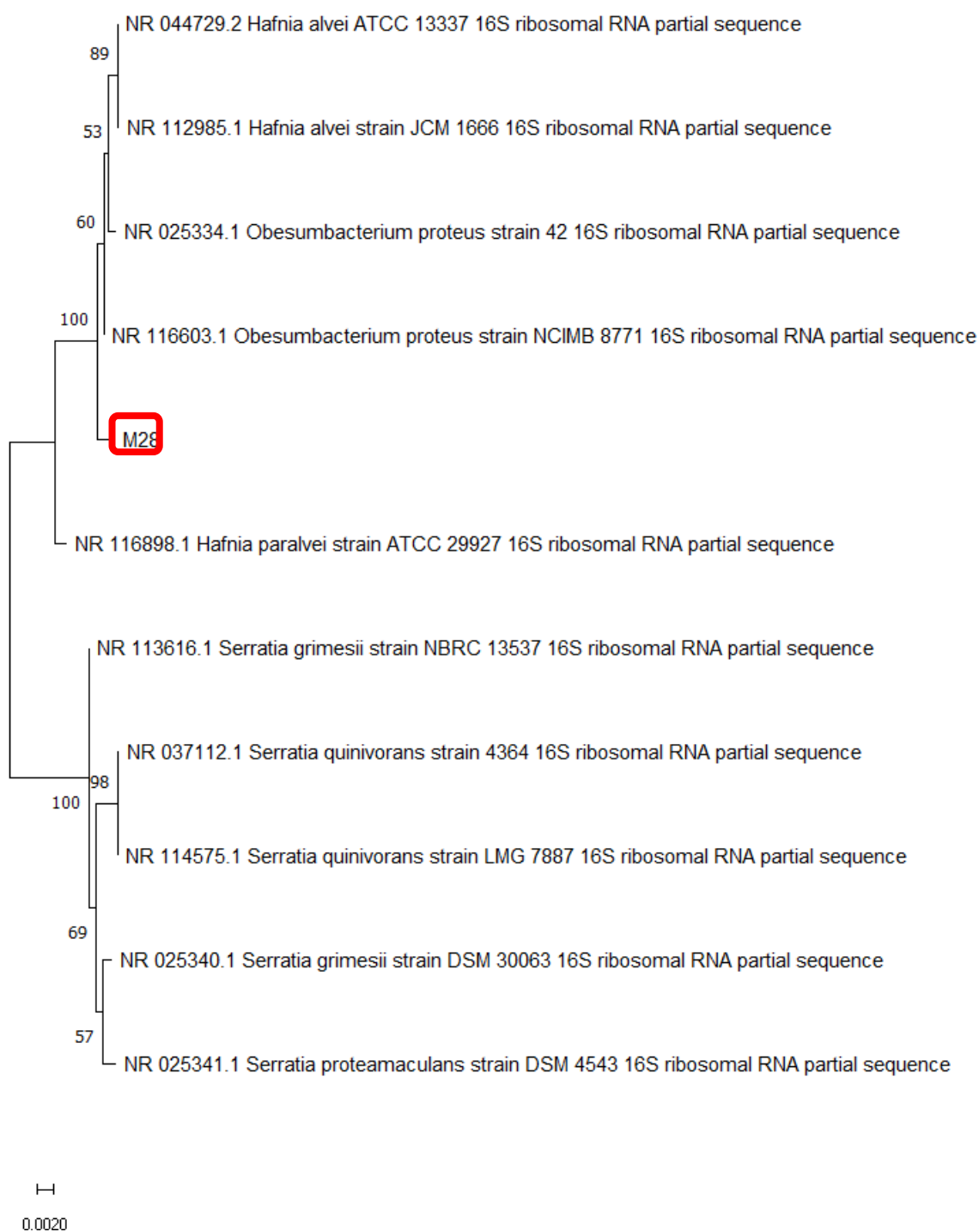


26.5. Análisis bioinformático del aislamiento 28

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
<u>Hafnia alvei strain JCM 1666 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia alvei</u>	100%	99.23%	1473	<u>NR_112985.1</u>
<u>Obesumbacterium proteus strain NCIMB 8771 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Obesumbacterium proteus</u>	100%	98.94%	1436	<u>NR_116603.1</u>
<u>Obesumbacterium proteus strain 42 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Obesumbacterium proteus</u>	100%	99.08%	1490	<u>NR_025334.1</u>
<u>Hafnia alvei ATCC 13337 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia alvei ATCC 13337</u>	100%	98.94%	1488	<u>NR_044729.2</u>
<u>Hafnia paralvei strain ATCC 29927 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia paralvei</u>	100%	98.45%	1495	<u>NR_116898.1</u>
<u>Serratia quinivorans strain 4364 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia quinivorans</u>	100%	97.54%	1508	<u>NR_037112.1</u>
<u>Serratia quinivorans strain LMG 7887 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia quinivorans</u>	100%	97.47%	1464	<u>NR_114575.1</u>
<u>Serratia proteamaculans strain DSM 4543 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia proteamaculans</u>	100%	97.40%	1502	<u>NR_025341.1</u>
<u>Serratia grimesii strain DSM 30063 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia grimesii</u>	100%	97.40%	1495	<u>NR_025340.1</u>
<u>Serratia grimesii strain NBRC 13537 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia grimesii</u>	100%	97.19%	1468	<u>NR_113616.1</u>

26.6. Análisis filogenético del aislamiento 28



27. Secuencia del alineamiento M30

27.1. Forward_M30

TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGGACGGGTGAGTA
ATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATGAC
GTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAG
CTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGC
CACACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAAT
GGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTT
CAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCGCAGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCAC
CGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGG
GCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAAC
TGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAA
ATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTC
AGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGT
CGACCTGGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCT
GGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAA
CCAGGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCCGAGAATTTGCT
AGAGATGCTTTAGTGCCTTCGGGACTCTTAGACAGTGCTGCAG

27.2. Reverse_M30

GGGAGGCAGCAGTGGGAATTTTGCACAATGGGCGCAAGCTGATGCAGCCCTGCCGCGTGTATG
AAGAACGCCTTTTCGGGTTGTAAAGTACTTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCACA
GTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGG
AGGGTGCCAGCGTTTATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTCAGA
TGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGAAACTGGTCAGCTAGAGTCTTGAGAGG
GGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAG
GCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT
ACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCC
GGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATT
GACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACC
TACTCTTGACATCCAGAGAATTTAGTAGAGATAGTTTAGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTG
CTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTTGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCC
TTATCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAG
GAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATG
GCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGG
ATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACG
GTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAA
GTAGGTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCTACCAC

27.3. Consenso_M30

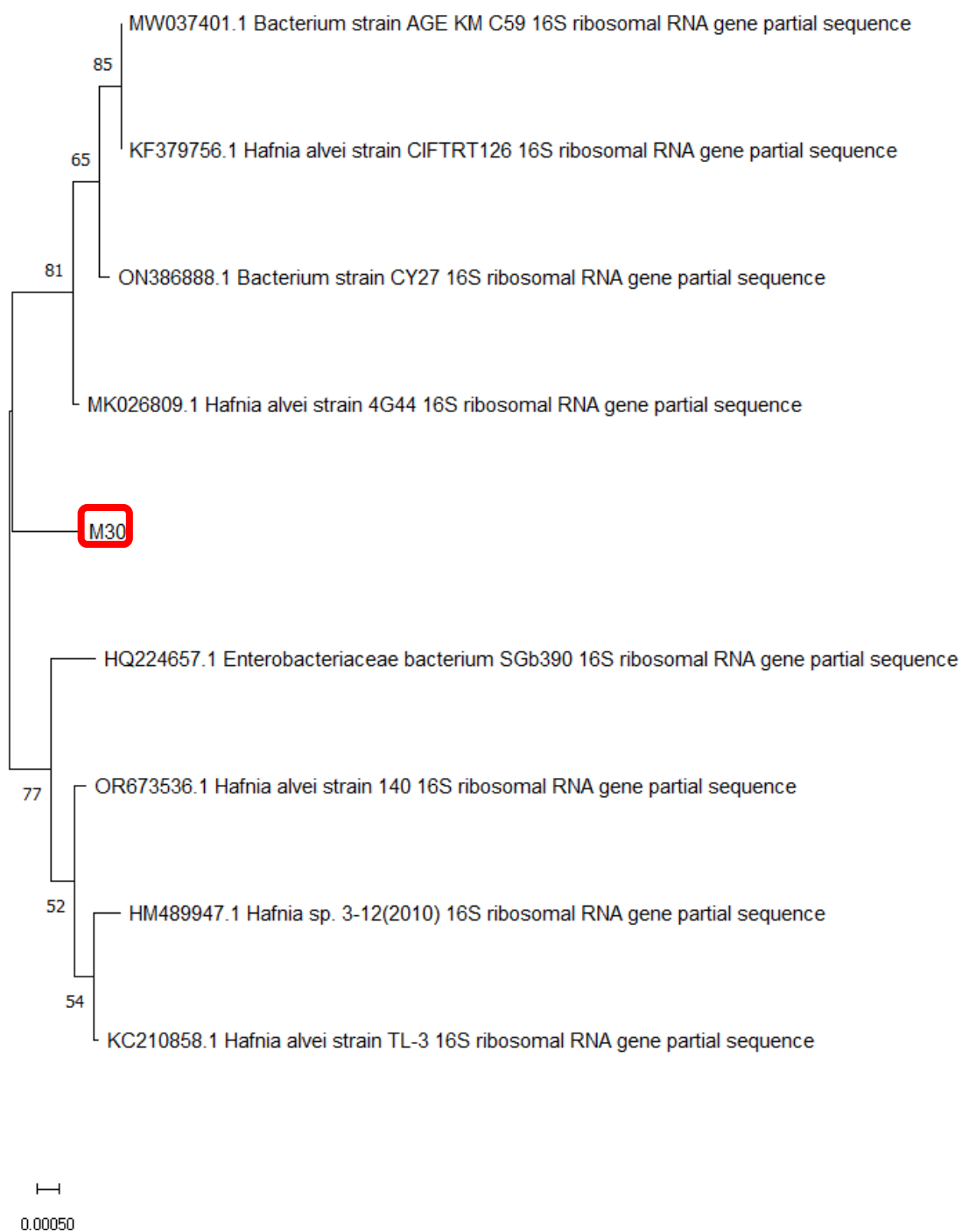
TGCAGTCGAGCGGTAGCACAAAGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGACGAGCGGCGG
ACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAA
ACGGTAGCTAATACCGCATGACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGC
CTCACGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGC
TCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGA
ACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACA
ATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTTCGGG
TTGTAAAGTACTTTCAGCGAGGAGGAAGGCATTGTGGTTAATAACCACAGTGAT
TGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTA
ATACGGAGGGTGCCAGCGTTTATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGG
CGGTTGATTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAACTGCATTTG
AACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGT
GAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGAC
AAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCC
TGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTGCGACTTGGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCG
TGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAG
GTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCCATGTGG
TTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATTTA
GTAGAGATAGTTTAGTGCCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTC
GTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTA
TCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAA
ACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGC
TACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGC
GGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATG
AAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCG
GGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAG
GTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCTACCAC

27.5. Análisis bioinformático del aislamiento M30

Se analizó la secuencia del gen ARNr 16S y se comparó con las secuencias de referencia de la base de datos del GenBank-NCBI, mediante la herramienta BLAST. La secuencia consenso fue alineada con cepas con un porcentaje de identidad mayor a 90 %, los resultados se muestran a continuación:

Descripción	Nombre científico	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accesión
<u>Hafnia alvei strain JCM 1666 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia alvei</u>	100%	99.22%	1473	<u>NR_112985.1</u>
<u>Obesumbacterium proteus strain NCIMB 8771 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Obesumbacterium proteus</u>	100%	98.94%	1436	<u>NR_116603.1</u>
<u>Hafnia alvei ATCC 13337 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia alvei ATCC 13337</u>	100%	98.94%	1488	<u>NR_044729.2</u>
<u>Obesumbacterium proteus strain 42 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Obesumbacterium proteus</u>	100%	99.01%	1490	<u>NR_025334.1</u>
<u>Hafnia paralvei strain ATCC 29927 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Hafnia paralvei</u>	100%	98.38%	1495	<u>NR_116898.1</u>
<u>Serratia quinivorans strain 4364 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia quinivorans</u>	100%	97.54%	1508	<u>NR_037112.1</u>
<u>Serratia quinivorans strain LMG 7887 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia quinivorans</u>	100%	97.47%	1464	<u>NR_114575.1</u>
<u>Serratia proteamaculans strain DSM 4543 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia proteamaculans</u>	100%	97.39%	1502	<u>NR_025341.1</u>
<u>Serratia grimesii strain DSM 30063 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia grimesii</u>	100%	97.39%	1495	<u>NR_025340.1</u>
<u>Serratia grimesii strain LMG 7883 16S ribosomal RNA, partial sequence</u>	<u>Serratia grimesii</u>	100%	97.33%	1461	<u>NR_114576.1</u>

27.6. Análisis filogenético del aislamiento M30



Identificación de los aislamientos bacteriológicos de los cuyes positivos a Linfadenitis cervical en cuyes mediante PCR del Gen *Strep-spp*

Las bacterias del género *Streptococcus* son de importancia económica y de salud pública ya que varias de especies son patógenas para animales y humanos, específicamente, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes* han sido aislados en casos de infecciones que afectan a estos animales (Barrios-Arpi y Morales-Cauti, 2020; Ordóñez *et al.*, 2024). Estas bacterias son conocidas por causar infecciones respiratorias, que pueden diseminarse a los ganglios linfáticos cercanos, provocando así inflamación y linfadenitis (Flores, 2018; Estupiñán *et al.*, 2018). En cuyes, la infección dada por este género puede surgir después de un compromiso del sistema inmunológico, lo que permite que estas bacterias proliferen; así mismo, el estrés, las condiciones de hacinamiento y una nutrición inadecuada son factores que pueden predisponer a los cuyes a estas infecciones (Jara *et al.*, 2023).

En la linfadenitis en cuyes, las bacterias del género *Streptococcus*, y en particular *S. zooepidemicus*, son patógenos de importancia debido a su capacidad de causar infecciones invasivas y recurrentes (Gruszynski *et al.*, 2015). Estos organismos poseen una serie de factores de virulencia que facilitan su invasión y supervivencia en el huésped, destacando las proteínas de superficie como las adhesinas y las invasinas, que permiten que la bacteria se adhiera y penetre en los tejidos del huésped, incluyendo los linfáticos. *S. zooepidemicus* tiene la capacidad de crear una cápsula de ácido hialurónico que lo protege del sistema inmunológico al mimetizarse con los tejidos del hospedador y evadir la fagocitosis. Entre los genes encargados de codificar estas proteínas, se encuentran los *hasA* y *hasB* para la cápsula, y el gen *szm*, el cual regula las proteínas de adhesión (Prasad, Ramachandran y Jayaraman, 2012; Steward *et al.*, 2017).

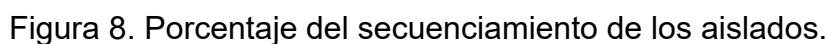
Además, *Streptococcus zooepidemicus* secreta exotoxinas, como estreptolisinas y estreptocinasas, estos mecanismos y los mecanismos antes mencionados pueden presentar variaciones en respuesta al ambiente del hospedador, lo cual podría explicar la adaptación de *S. zooepidemicus* en diferentes especies, incluyendo los cuyes, y en distintos entornos la capacidad de desarrollar biopelículas en algunos tejidos permite que estas bacterias resistan las respuestas inmunológicas y tratamientos antimicrobianos, dificultando la erradicación de la infección (Steward *et al.*, 2017). Este

complejo conjunto de factores de virulencia en *Streptococcus* resalta su versatilidad como patógeno oportunista y su potencial de adaptación para infectar diversos huéspedes, incluyendo cuyes.

No obstante, los estudios moleculares y genéticos enfocados en esta bacteria y sus diversas especies son escasos, en cuyes este microorganismo es uno de los principales patógenos, tanto en la crianza familiares, como en los sistemas de producción comercial. En ese sentido el presente estudio identificó mediante PCR que era *Streptococcus* sp, por la presencia de secuencias características del género, que los distinguen de otros género bacterianos (Lal et al., 2011). Nuestros resultados evidenciaron una frecuencia de 80% del género *Streptococcus* sp. Un resultado comparable con diversos estudios en los que se han reportado una frecuencia de aislamiento de hasta un 20% en cobayos, vinculada en su mayoría a lesiones patológicas como la linfadenitis cervical purulenta en las zonas altas del centro de Perú, y tasas que oscilan entre el 70% y el 100% en otras áreas del país (Angulo-Tisoc, Siuce y Jara, 2021; Jara et al., 2023).

Análisis filogenéticos y bioinformática de los aislamientos bacteriológicos de los cuyes positivos a Linfadenitis cervical en cuyes

La linfadenitis se presenta mayormente en cuyes con enfermedades causadas por bacterias como *Streptococcus*, *Yersinia*, *Bordetella*, y *Salmonella* (Barrios-Arpi y Morales-Cauti, 2020). En este estudio, un total de 27 aislamientos bacterianos fueron identificados molecularmente mediante el gen ARNr 16S. Los aislamientos estuvieron asociados a las familias *Hafniaceae*, *Enterobacteriaceae*, y *Vibrionaceae* (Figura 8).



179

traumatismos u otras condiciones predisponentes en los cuyes (Ramos-Vivas, 2020). Por otro lado, la detección de *Salmonella* y *Vibrio metschnikovii* podría estar asociada con factores ambientales o de manejo, ya que ambos géneros incluyen bacterias que pueden estar presentes en fuentes de agua y alimentos contaminados, lo cual representa un riesgo para la salud de estos animales (Ordóñez et al., 2024). Si bien es cierto, *Salmonella enterica* serovar typhimurium es la bacteria con mayor frecuencia reportada en el Perú (Layme et al., 2011) ésta es reportada principalmente en infecciones de salmonelosis.

La identificación de *Enterobacter cloacae* y otros miembros de la familia *Enterobacteriaceae* sugiere la posible influencia de una microbiota ambiental variada, debido a las condiciones de crianza o al contacto con otros animales que actúan como reservorios de estas bacterias oportunistas. Estos hallazgos reflejan la complejidad de las infecciones bacterianas en cuyes y subrayan la importancia de las prácticas de manejo para reducir la exposición a posibles patógenos ambientales. Mientras tanto, la detección de *Hafnia alvei* en varias de las muestras de cuyes con linfadenitis puede implicar varias consideraciones importantes para la salud animal y el manejo veterinario; en primer lugar, su presencia sugiere que esta bacteria podría estar actuando como un patógeno oportunista, lo que indica que los cuyes pueden estar en un estado de inmunosupresión o estrés, predisponiéndolos a infecciones, resaltando la necesidad de evaluar las condiciones de manejo y ambiente en las que se encuentran los animales, así como su alimentación (Padilla et al., 2015).

En comparación con estos resultados, Bemis et al. (2016) encontraron asilamientos similares con *Streptobacillus moniliformis*, reclasificado como *Caviibacter abscessus*. Así también, Angulo-Tisoc et al. tuvieron aislamientos pertenecientes a los géneros *Staphylococcus* sp, y a la enterobacteria *Klebsiella* sp., géneros que no fueron reportados en el presente estudio. De igual manera, Gancino (2024) obtuvo aislamientos identificados como parte de los géneros *Citrobacter* sp. y *Staphylococcus* sp. Coincidiendo con *Staphylococcus* sp. en el estudio realizado.

Estos resultados evidencian que la linfadenitis se encuentra asociada a una variedad de patógenos bacterianos, causando la dificultad en el hallazgo de un tratamiento eficaz. En ese sentido, es clave aplicar medidas de control y bioseguridad que eviten la propagación de esta infección.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- Las técnicas de identificación microbiológica permitieron la identificación de especies bacterianas asociadas a los géneros: *Streptococcus* sp, *Enterobacter* sp., *Staphylococcus* sp, *Escherichia* sp, y *Salmonella* sp. como agentes bacterianos de linfadenitis cervical en cuyes (*Cavia porcellus*)
- La identificación molecular a través del gen ARNr 16S permitió la identificación de diversas especies bacterianas, incluidos: *Enterobacter cloacae*, *Enterobacteriaceae bacterium*, *Hafnia alvei*, *Hafnia* sp, *Salmonella* entérica subsp entérica serovar *Typhimurium*, *Vibrio metschnikovii*.

5.2. Recomendaciones

- Realizar un análisis epidemiológico para determinar la prevalencia de linfadenitis en diferentes poblaciones de cuyes, incluyendo la recopilación de datos sobre factores de riesgo, condiciones de manejo y posibles brotes.
- Implementar técnicas de secuenciación genética, como la secuenciación del genoma completo, para caracterizar las cepas de microorganismos aisladas, lo que podría ayudar a identificar factores de virulencia y patrones de resistencia a antibióticos.
- Así mismo, utilizar herramientas de secuenciamiento NGS, como metagenómica para estudiar la microbiota intestinal y asociada a la piel de los cuyes, con el objetivo de revelar las interacciones entre diferentes microorganismos y su impacto en la salud del huésped.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott, Y., Acke, E., Khan, S., Muldoon, E. G., Markey, B. K., Pinilla, M., Leonard, F. C., Steward, K., & Waller, A. (2010). Zoonotic transmission of *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* from a dog to a handler. *Journal of Medical Microbiology*, 59(1), 120–123. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.012930-0>
- Adrien, J. L., Rossignol-Deletang, N., Martineau, J., Couturier, G., & Barthelemy, C. (2001). Stress-induced sickness behaviors: An alternative hypothesis for responses during maternal separation. *Developmental Psychobiology*, 39(2), 76–83. <https://doi.org/10.1002/dev.1031>
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215(3), 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Angulo-Tisoc, J., Siuce, J., & Jara, L. M. (2021). Frecuencia de patógenos asociados a linfadenitis cervical en cuyes de centros de crianza familiar-comercial en Cusco, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 32(1), e19505. <https://doi.org/10.15381/rivep.v32i1.19505>
- Arafa, A. A., Hedia, R. H., Ata, N. S., & Ibrahim, E. S. (2021). Vancomycin resistant *Streptococcus equi* subsp. *Equi* isolated from equines suffering from respiratory manifestation in Egypt. *Veterinary World*, 14(7), 1808–1814. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.1808-1814>
- Avilés, D. F., Martínez, A. M., Landi, V., & Delgado, J. V. (2014). El cuy (*Cavia porcellus*): un recurso andino de interés agroalimentario The guinea pig (*Cavia porcellus*): An Andean resource of interest as an agricultural food source. *Animal Genetic Resources/Ressources Génétiques Animales/Recursos Genéticos Animales*, 55, 87–91. <https://doi.org/10.1017/s2078633614000368>
- Barrial, A. I., & Huamán C, M. L. (2020). La Cavicultura. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/348949293>
- Barrios-Arpi, L. M., & Morales-Cauti, S. M. (2020). Cytomorphological characterization of lymphadenopathies in guinea pigs: study of 31 clinical cases. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 32, 1–5. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2019.10.006>

- Barthold, S. W., Griffey, S. M. and Percy, D. H. (2016) *Pathology of laboratory rodents and rabbits, Pathology of Laboratory Rodents and Rabbits*. doi: 10.1002/9781118924051.
- Bemis, D. A., Johnson, B. H., Bryant, M. J., Jones, R. D., McCleery, B. V., Greenacre, C. B., Perreten, V., & Kania, S. A. (2016). Isolation and identification of *Caviibacter abscessus* from cervical abscesses in a series of pet guinea pigs (*Cavia porcellus*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 28(6), 763–769. <https://doi.org/10.1177/1040638716665660>
- Bonnet, M., Lagier, J. C., Raoult, D., & Khelaifia, S. (2019). Bacterial culture through selective and non-selective conditions: the evolution of culture media in clinical microbiology. *New microbes and new infections*, 34, 100622. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2019.100622>
- Bou, G., Fernández-Olmos, A., García, C., Sáez-Nieto, J. A., & Valdezate, S. (2011). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29(8), 601–608. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.03.012>
- Brabb, T., Newsome, D., Burich, A., & Hanes, M. (2012a). Infectious diseases. In *Problems in Critical Care* (Vol. 1, Issue 2, pp. 295–315). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-01-2-380920-9.00023-7>
- Brabb, T., Newsome, D., Burich, A., & Hanes, M. (2012b). Infectious Diseases. In *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents* (Issue January). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-380920-9.00023-7>
- Brown, C. J., & Donnelly, T. M. (2004). Rodent husbandry and care. *Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice*, 7(2), 201–225. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2004.02.005>
- Canut-Blasco, A., Calvo, J., Rodríguez-Díaz, J. C., & Martínez-Martínez, L. (2016). Informes acumulados de sensibilidad a los antimicrobianos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 34(8), 524–530. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2015.03.019>
- Carhuapoma–Delacruz, V., Ramos–Espinoza, Y., Paucar–Chanca, R., Valencia–Mamani, N., & Esparza, M. (2022). Etiología y susceptibilidad antibiótica de bacterias causantes de Linfadenitis cervical en cobayos (*Cavia porcellus*)

- reproductoras clínicamente enfermas. *Revista Científica de La Facultad de Ciencias Veterinarias*, XXXII(single), 1–8. <https://doi.org/10.52973/rcfcv-e32160>
- Concha, D. V. (2014). Identificación de la etiología de abscesos subcutáneos (linfadenitis) en cuyes (*Cavia porcellus*) en etapa de crecimiento mediante aislamiento microbiológico en la sección D-2 de la Irrigación de Majes – 2013. Tesis de Licenciatura. Universidad Católica de Santa María. Disponible en: <http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/UCSM/4373/68.0711.VZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Corning, B. F., Murphy, J. C., & Fox, J. (1991). Group G Streptococcal Lymphadenitis in Rats. *Journal of Clinical Microbiology*, 29(12), 2720–2723. <https://doi.org/https://doi.org/10.1128/jcm.29.12.2720-2723.1991>
- Daniel, W. W. (1999). *Biostatistics: A foundation for analysis in the health sciences* (7^a ed.). Wiley. https://books.google.com.pe/books/about/Biostatistics.html?id=OrBpAAAAMAAJ&redir_esc=y
- Dashti, A. A., Jadaon, M. M., Abdulsamad, A. M., & Dashti, H. M. (2009). Heat treatment of bacteria: A simple method of DNA extraction for molecular techniques. *Kuwait Medical Journal*, 41(2), 117–122. https://www.researchgate.net/publication/266888615_Heat_Treatment_of_Bacteria_A_Simple_Method_of_DNA_Extraction_for_Molecular_Techniques
- DeCubellis, J. (2016). Common Emergencies in Rabbits, Guinea Pigs, and Chinchillas. *Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice*, 19(2), 411–429. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2016.01.003>
- Dohoo, I., Martin, W., & Stryhn, H. (2009). *Veterinary epidemiologic research* (2^a ed.). VER Inc. Retrieved from <https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=1515397>.
- Dos Santos, H. R. M., Argolo, C. S., Argôlo-Filho, R. C., & Loguercio, L. L. (2019). A 16S rDNA PCR-based theoretical to actual delta approach on culturable mock communities revealed severe losses of diversity information. *BMC Microbiology*, 19(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1446-2>
- Estupiñán, P, Burgos, A., Chacha, S., Baquero, M. I., Gómez, C., Sánchez, X., & Soque, A. (2018). Linfadenitis en un plantel productor de cuyes. *Ecuador es*

Calidad: Revista Científica Ecuatoriana, 5(1), 1–3.
<https://doi.org/10.36331/revista.v5i1.33>

- Evans, B. (2013). Small Mammals: Guinea Pigs. *Clinical Veterinary Advisor: Birds and Exotic Pets*, 253–284. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-3969-3.00139-6>
- Falco, A., Miguel, Á., Gallo, D., Mondrag, A., Aranaga, C., & Correa, A. (2023). Identification of *Vibrio metschnikovii* and *Vibrio injensis* Isolated from Leachate Ponds : Characterization of Their Antibiotic Resistance and Virulence-Associated Genes. *Antibiotics*, 12. <https://www.mdpi.com/2079-6382/12/11/1571>
- Flores, B., González, N., Bravo, A., Mora-sánchez, B., Torres, D., Jirón, W., Sheleby-elías, J., & Balcázar, J. L. (2021). Identification of pathogenic bacteria in fishes caught in the Pacific off Nicaragua. *Ciencias Marinas*, 47(3), 175–184. <https://doi.org/10.7773/cm.v47i3.3212>
- Flores, D. Y. (2018). Identificación del agente causal de linfadenitis cervical en cuyes (*Cavia porcellus*) mediante métodos microbiológicos en el centro experimental Pampa del Arco, Ayacucho - 2017. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional De San Cristóbal. Disponible en: <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/3506>
- FONCODES (2014) *Crianza de Cuyes*. LIMA - PERÚ. Available at: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_60707267ecda2.pdf.
- Gancino, D. A. (2024). Identificación de agentes bacterianos en cuyes (*Cavia porcellus*) con signos respiratorios en el sector santan del cantón latacunga. Tesis de Licenciatura. *Universidad Técnica de Cotopaxi*. Disponible en: <https://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/12139>
- Gómez Gallo, C., Armendáriz Sánchez, J., & Pujos Aranda, J. (2023). Identificación de Linfadenitis y Coccidiosis en cuyes faenados en la empresa Llerena del cantón Pelileo. *Revista Científica Arbitrada Multidisciplinaria PENTACIENCIAS*, 5(4), 262–270. <https://doi.org/10.59169/pentaciencias.v5i4.665>
- González-Lama, Z., González, J. J., Lupiola, P., & Tejedor, M. T. (2000). Portadores de estreptococos betahemolíticos de los grupos A, B y C en escolares de Las Palmas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 1, 1–8. <https://www.elsevier.es/en-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia->

- Gruszynski, K., Young, A., Levine, S. J., Garvin, J. P., Brown, S., Turner, L., Fritzinger, A., Gertz, R. E., Murphy, J. M., Vogt, M., & Beall, B. (2015). Streptococcus equi subsp. zooepidemicus infections associated with guinea pigs. *Emerging Infectious Diseases*, 21(1), 156–158. <https://doi.org/10.3201/eid2101.140640>
- Gupta, N. (2019). DNA extraction and polymerase chain reaction. *Journal of Cytology*, 36(2), 116–117. https://doi.org/10.4103/JOC.JOC_110_18
- INEI. (2012) *IV Censo Nacional Agropecuario 2012, Instituto Nacional de Estadística e Informática*. Disponible en: <http://censos.inei.gob.pe/cenagro/tabulados/>.
- INIA (2005) 'Cuy Raza Peru', *Instituto Nacional de Innovación Agraria, INIA, Lima, Peru*, p. 2. Disponible en: <https://repositorio.inia.gob.pe/items/806c963c-1658-4e3f-9210-6e8022c2bc0e>
- Hasan, M. R., Suleiman, M., Ilagan, E., Crouch, N., Lopez, A. P., Thomas, E., & Tang, P. (2019). Growth of Clinically Important Gram-Negative Bacteria on MacConkey Agar under Aerobic versus CO₂-Enriched Environment. *Journal of Clinical Microbiology*, October, 9–11. <https://doi.org/https://doi.org/10.1128/jcm.01441-19>
- Huang, Z., Yu, K., Lan, R., Morris, J. G., Xiao, Y., Ye, J., Zhang, L., Luo, L., Gao, H., Bai, X., Wang, D., Huang, Z., Yu, K., Lan, R., Morris, J. G., Xiao, Y., Zhang, L., Luo, L., Gao, H., ... Wang, D. (2023). *Vibrio metschnikovii* as an emergent pathogen: analyses of phylogeny and O-antigen and identification of possible virulence characteristics. *Emerging Microbes & Infections*, 12. <https://doi.org/10.1080/22221751.2023.2252522>
- Jara, L. M., Angulo-Tisoc, J., Giménez-Lirola, L. G., Li, G., Andrade, R., & Mamani, J. (2023). Outbreak of Pathogenic Streptococcus equi subsp. zooepidemicus in Guinea Pigs Farms of The Andean Region. *Pathogens*, 12(3), 1–8. <https://doi.org/10.3390/pathogens12030445>
- Jiménez, M. X. (2016). Evaluación de la aplicación de dióxido de cloro al 28% para el control de linfadenitis, en cobayos, de la “cuyera nacional cuy cuna cía. Ltda.”, Cantón Latacunga. Tesis de Licenciatura. Universidad Técnica de Cotopaxi, Latacunga. Disponible en: <https://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/3285>

- Krklec, S. M. (2021). Evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial del kion (*Zingiber officinale*) sobre cepas de *Streptococcus* causantes de linfadenitis en cuyes (*Cavia porcellus*). Tesis para optar el título profesional de Médico Veterinario y Zootecnista. Universidad Cinetífica del Sur. Disponible en: <https://repositorio.cientifica.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12805/1734/TL-Krklec%20S.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Lal, D., Verma, M., & Lal, R. (2011). Exploring internal features of 16S rRNA gene for identification of clinically relevant species of the genus *Streptococcus*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 10(1), 28. <https://doi.org/10.1186/1476-0711-10-28>
- Langan, G. P., Lohmiller, J. J., Swing, S. P., & Wardrip, C. L. (2000). Respiratory diseases of rodents and rabbits. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 30(6), 1309–1335. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(00\)06009-5](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(00)06009-5)
- Larsson, A. (2014). AliView: A fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. *Bioinformatics*, 30(22), 3276–3278. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu531>
- Layme, A., Perales, R., Chavera, A., Gavidia, C., & Calle, S. (2011). Lesiones anatomopatológicas en cuyes (*cavia porcellus*) con diagnóstico bacteriológico de *Salmonella* sp. *Revista de Investigaciones V*, 22, 369–376. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172011000400011
- Linde, H.-J., Kobuch, R., Jayasinghe, S., Reischl, U., Lehn, N., Kaulfuss, S., & Beutin, and L. (2004). *Vibrio metschnikovii*, a Rare Cause of Wound Infection. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(10), 4909–4911. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.10.4909>
- Manning, P. J., Wagner, J. E., & Harkness, J. E. (1984). Biology and Diseases of Guinea Pigs. In *Laboratory Animal Medicine* (Vol. 362). ACADEMIC PRESS, INC. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-263620-2.50012-4>

- Manrique, X. S. (2021). Efecto del dióxido de cloro al 30% sobre el control de linfadenitis en cuyes. Huancayo - 2019. Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario y Zootecnista. Universidad Peruana los Andes. <http://repositorio.upla.edu.pe/handle/UPLA/1956>
- Mans, C. (2013). Small Mammals: Guinea Pigs. *Clinical Veterinary Advisor: Birds and Exotic Pets*, 253–284. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-3969-3.00139-6>
- Mayer, J. (2007). Use of behavior analysis to recognize pain in small mammals. *Lab Animal*, 36(6), 43–48. <https://doi.org/10.1038/labam0607-43>
- Mescoco, R. (2019). Sensibilidad farmacológica del agente etiológico de la linfadenitis en cuyes del centro de producción de reproductores Huayllapampa-San Jerónimo, Agencia Agraria Cusco. Para optar al título profesional de Ingeniero Zootecnista. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. <http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/UNSAAC/2874/253T20171097.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Murphy, J. C., Ackerman, J. I., Marini, R. P., & Jg, Z. (1991). Linfadenitis cervical en cobayos : infección a través de mucosa ocular y nasal intacta por *Streptococcus zooepidemicus*. *Lab Anim Sci*, 41(3), 1658464. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1658464/>
- O'Rourke, D. P. (2020). Disease Problems of Guinea Pigs. *Ferrets, Rabbits, and Rodents*, 21(1), 1–9. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B0-72-169377-6/50026-5>
- Olmos, A., De la Fuente, C., Saéz, J., & Valdezate, S. (2010). Procedimientos en Microbiología Clínica Recomendaciones. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de Microbiología. In *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* (Vol. 29, Issue 8, pp. 601–608). <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.03.012>
- Ordóñez, Y. F., Miranda, E., López, M. F., & Ordóñez, P. E. (2024). Antibacterial activity of plant extracts against *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* isolates from guinea pigs with lymphadenitis in Ecuador. *Heliyon*, 10(3). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e25226>

- Padilla-Carlin, D. J., McMurray, D. N., & Hickey, A. J. (2008). The guinea pig as a model of infectious diseases. *Comparative Medicine*, 58(4), 324–340. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2706043/>
- Padilla, D., Acosta, F., Ramos-Vivas, J., Grasso, V., Bravo, J., El Aamri, F., & Real, F. (2015). The pathogen *Hafnia alvei* in veterinary medicine: a review. *Journal of Applied Animal Research*, 43(2), 231–235. <https://doi.org/10.1080/09712119.2014.963086>
- Percy, D.H., Barthold, S. W. (2007). Pathology of laboratory rodents and rabbits. *Bee World*, 26(1), 5–5. <https://doi.org/10.1080/0005772x.1945.11094307>
- Prasad, S. B., Ramachandran, K. B., & Jayaraman, G. (2012). Transcription analysis of hyaluronan biosynthesis genes in *Streptococcus zooepidemicus* and metabolically engineered *Lactococcus lactis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 94(6), 1593–1607. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-3944-0>
- Pritt, S. (2012). Taxonomy and History. *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents*, 563–574. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-380920-9.00019-5>
- Quispe, M. E. R. (2019). Secuenciación molecular del gen 16 “s” para la identificación del agente causal de linfadenitis en cuyes (*Cavia porcellus*) Arequipa – 2017. Tesis para optar el Título Profesional de: Médico Veterinario y Zootecnista. Universidad Católica de Santa María. <https://repositorio.ucsm.edu.pe/items/322df049-4543-4af7-855e-00f368c3d5fe>
- Ramos-Vivas, J. (2020). Microbiología de *Hafnia alvei*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 38, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2020.02.001>
- Roberts-Steel, S., Oxley, J. A., Carroll, A., & Wills, A. P. (2019). Frequency of owner-reported bacterial infections in pet guinea pigs. *Animals*, 9(9), 1–11. <https://doi.org/10.3390/ani9090649>
- Sachser, N., Künzl, C., & Kaiser, S. (2007). The welfare of laboratory guinea pigs. In *Wild* (Springer, pp. 181–209).
- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4(4), 406–425. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454>

- Saldías, F. P., Yáñez, J. V., Saldías, V. H., & Díaz, O. P. (2008). Neumonía grave por *Streptococcus pyogenes*. Reporte de un caso. *Revista Medica de Chile*, 136(12), 1564–1569. <https://doi.org/10.4067/s0034-98872008001200009>
- Sánchez-Macías, D., Barba-Maggi, L., Morales-delaNuez, A., & Palmay-Paredes, J. (2018). Guinea pig for meat production: A systematic review of factors affecting the production, carcass and meat quality. *Meat Science*, 143(May), 165–176. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.05.004>
- Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 74(12), 5463–5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
- Serrato, A., Flores, L., Aportela, J., & Sierra, E. (2014). PCR : reacción en cadena. In M. G. R. M. Amelia Cornejo Romero, Alejandra Serrato Díaz, Beatriz Rendón Aguilar (Ed.), *Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos*. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/266856169_PCR_reaccion_en_cadena_de_la_polimerasa
- Shomer, N. H., Holcombe, H., & Harkness, J. E. (2015). Biology and Diseases of Guinea Pigs. In *Laboratory Animal Medicine: Third Edition* (pp. 247–283). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409527-4.00006-7>
- Sint, D., Raso, L., & Traugott, M. (2012). Advances in multiplex PCR: Balancing primer efficiencies and improving detection success. *Methods in Ecology and Evolution*, 3(5), 898–905. <https://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2012.00215.x>
- Steward, K. F., Robinson, C., Holden, M. T. G., Harris, S. R., Ros, A. F., Pérez, G. C., Baselga, R., & Waller, A. S. (2017). Diversity of *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* strains isolated from the Spanish sheep and goat population and the identification, function and prevalence of a novel arbutin utilisation system. *Veterinary Microbiology*, 207, 231–238. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.06.020>
- Teves, R. C. (2022). *Caracterización de Agentes Bacterianos de linfadenitis cervical y antibiograma en cuyes (Cavia porcellus) mejorados en la microcuenca del río Mariño - Abancay 2018* (Issue 8.5.2017). <https://www.who.int/news-room/fact->

sheets/detail/autism-spectrum-disorders

- Thrusfield, M. (2018). *Veterinary epidemiology* (4^a ed.). Wiley-Blackwell. Disponible en: <https://www.wiley.com/en-us/Veterinary+Epidemiology%2C+4th+Edition-p-9781118280270>
- Vadillo, S., Mateos, E.M. y Píriz Durán, S. (2002) Manual de microbiología veterinaria. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/765829342/Manual-de-Microbiologia-Veterinaria-s-vadillo> [Accedido: 18 agosto 2025].
- Valladares, R. J. (2019). Caracterización molecular de dos poblaciones de cuyes nativos (*cavia porcellus*) de Cuzco y Puno utilizando marcadores STR. Tesis para optar el Título Profesional de Biólogo. Universidad Nacional Agraria la Molina. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/3914>
- Vivas, J. A. (2009). Manual de crianza de cobayos (*Cavia porcellus*). Universidad Nacional Agraria, 1, 49. Disponible en: <http://repositorio.una.edu.ni/2472/1/RENLO1V856.pdf>
- Wagner, J. E., Owens, D. R., Kusewitt, D. F., & Corley, E. A. (1976). Otitis media of guinea pigs. *Laboratory Animal Science*, 26(6). <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-0346391100&origin=inward&txGid=f495d869485cf1f1f86b23dfdfc1fad1>

ANEXOS



Figura 1. Detección de ganglio cervical inflamado en el cuy



Figura 2. Realización de PCR en termociclador

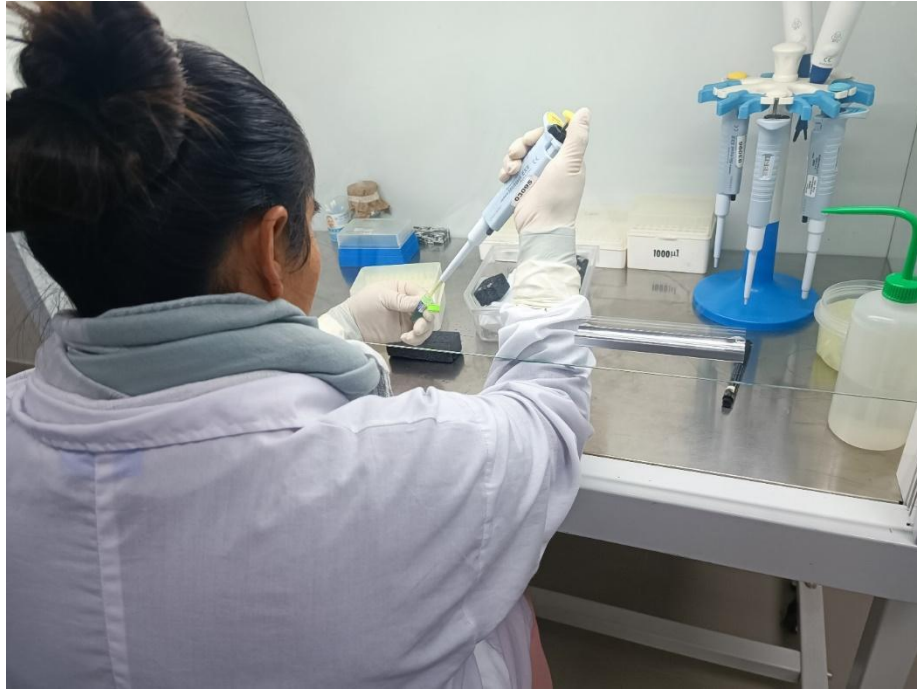


Figura 3. Preparación de las muestras para el proceso de PCR

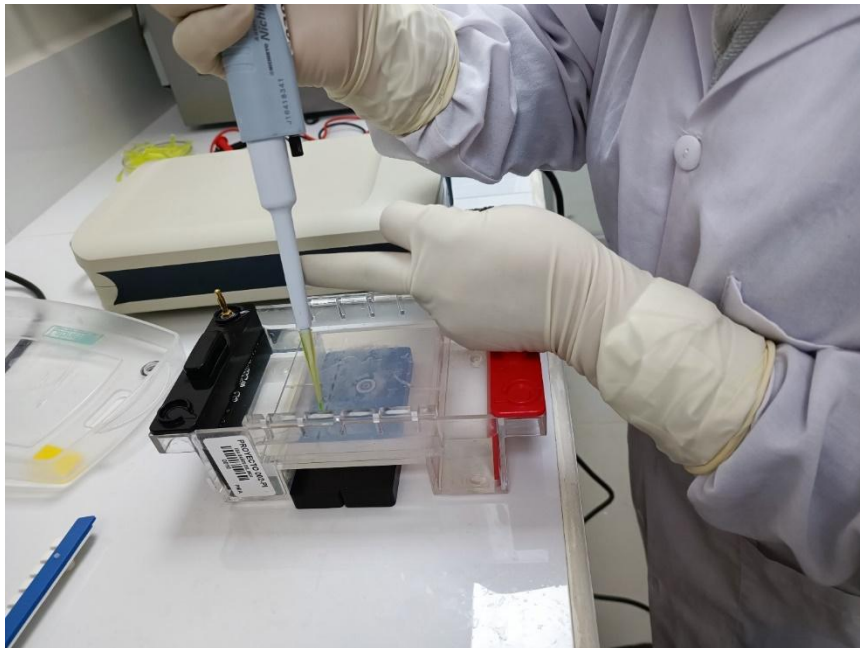


Figura 4. Electroforesis en gel de agarosa a partir de los productos de PCR

Anexo1: Protocolo de recolección de muestras en campo

Una vez identificado el cuy positivo a Linfadenitis se realizará el siguiente procedimiento:

1. El profesional encargado deberá utilizar guantes estériles para la recolección de la muestra.
2. Desinfectar sus materiales con alcohol al 70 %.
3. Desinfectar el ganglio cervical infartado con yodo povidona diluido al 1 %, rasurar el pelo de la parte afectada, con una aguja hipodérmica de 18G x 1" aspirar aproximadamente 0,5 a 1,0 mL de pus.
4. Rotular cada muestra extraída en las jeringas con los siguientes datos: lugar de procedencia, número de muestra, etc (**Ver anexo 1**). Se colocan las muestras identificadas en una caja de Tecnopor con bolsas de hielo. Y se trasladan al Laboratorio Biotecnología en Sanidad Animal del INIA-Baños del Inca, Cajamarca para su conservación y procesamiento.

Anexo 2: Ficha toma de muestras

FICHA DE TOMA DE MUESTRAS DE CUYES POSITIVOS A LINFADENITIS	
Lugar de muestra	
Procedencia	
Sexo	
Edad	
Sistema de crianza	
Raza	
Tratamiento que haya recibido o esté recibiendo por presencia de alguna enfermedad	
Tipo de alimentación	
OBSERVACIONES	

Anexo 3. Cantidad y calidad de ADN extraído de los aislamientos bacterianos en la zona sur de la región de Cajamarca.

Número de muestras	Códigos	Cantidad ug/mL	Calidad 260/280	Calidad 260/230
1	M13	282.52	1.728	0.753
2	M15	213.10	1.895	0.873
3	M16	396.72	1.738	0.625
4	M17	245.18	1.854	0.845
5	M18	180.17	1.757	0.461
6	M19	219.32	1.835	0.949
7	M20	223.54	1.745	0.712
8	M21	214.23	1.760	0.578
9	M22	198.58	1.915	0.574
10	M23	211.54	1.711	0.658
11	M25	233.64	1.819	0.784
12	M27	253.35	1.701	0.645
13	M28	136.58	1.759	0.941
14	M30	400.01	1.750	0.598
15	81	180.17	1.757	0.461
16	86	381.98	1.717	0.650
17	91	376.48	1.766	0.526
18	95	327.41	1.711	0.584
19	99	369.87	1.957	0.846
20	100	293.78	1.782	0.733
21	101	241.16	1.781	0.599
22	102	189.78	1.954	0.908
23	103	419.85	1.927	0.952
24	134	231.58	1.754	0.658
25	136	305.85	1.795	0.645
26	138	232.22	1.764	0.623
27	139	241.58	1.812	0.899
28	87	380.12	1.792	0.546
29	M13	209.95	1.769	0.753
30	M14	383.58	1.744	0.685
31	SM37	271.87	1.722	0.627
32	SM31	284.04	1.720	0.682
33	SM1	285.00	1.664	0.638
34	SM3	213.46	1.650	0.613
35	SM5	159.90	1.872	0.446
36	SM37	291.28	1.765	0.650
37	M24	232.06	1.658	0.560
38	SM2	312.53	1.685	0.626
39	SM4	252.81	1.998	0.630
40	M19	218.32	1.835	0.949
41	SM34	140.80	1.725	0.638
42	SM5	138.69	1.852	0.892
43	SM22	459.52	1.951	0.842
44	Caja 50	155.20	1.702	0.583
45	Caja 47	195.25	1.748	0.558
46	Caja 48	168.71	1.734	0.561
47	Caja 46	154.37	1.724	0.574
48	Caja 9	146.38	1.748	0.565
49	Caja 10	117.23	1.759	0.985
50	Caja 45	155.77	1.702	0.559
51	Caja 6	315.79	1.761	0.608
52	Caja 18	348.24	1.708	0.605
53	Caja 11	231.05	1.746	0.594

54	Caja 5	382.00	1.729	0.794
55	Caja 19	320.39	1.735	0.725
56	Caja 15	143.27	1.765	0.679
57	Caja 17	184.14	1.788	0.968
58	Caja 16	231.04	1.740	0.666
59	Caja 7	312.28	1.712	0.672
60	Caja 4	210.26	1.727	0.567
61	Caja 2	197.71	1.764	0.597
62	Caja 8	318.18	1.798	0.589
63	Caja 13	317.12	1.731	0.687
64	Caja 3	306.45	1.719	0.550
65	Caja 12	242.13	1.745	0.659
66	Caja 1	189.86	1.746	0.628
67	Caja 32	416.15	1.758	0.517
68	Caja 38	353.86	1.717	0.511
69	Caja 39	379.05	1.728	0.506
70	Caja 36	441.83	1.722	0.598
71	Caja 51	324.46	1.767	0.548
72	Caja 40	459.11	1.758	0.523
73	Caja 14	302.82	1.734	0.585
74	Caja 49	355.52	1.755	0.630
75	Caja 41	215.85	1.773	0.787
76	Caja 31	209.46	1.719	0.664
77	Caja 42	228.12	1.703	0.626
78	Caja 60	152.45	1.936	1.716
79	Caja 61	158.56	1.766	1.550
80	Caja 62	124.82	1.764	0.714
81	Caja 63	261.01	1.898	0.894
82	Caja 64	176.57	1.978	0.874
83	Caja 65	155.85	1.765	0.628
84	Caja 66	144.79	1.836	0.842
85	Caja 67	136.40	1.882	0.458
65	Caja 68	142.13	1.795	0.759
66	Caja 69	289.86	1.846	0.828
67	Caja 70	316.15	1.958	0.917
68	Caja 71	153.86	1.817	0.611
69	Caja 72	279.05	1.928	0.806
70	Caja 73	241.83	1.822	0.798
71	Caja 74	224.46	1.867	0.848
72	Caja 75	259.11	1.768	0.623
73	Caja 76	102.82	1.834	0.785
74	Caja 77	255.52	1.798	0.730
75	Caja 78	292.85	1.745	0.718
76	Caja 79	109.46	1.726	0.764
77	Caja 80	428.12	1.803	0.826
78	Caja 81	252.45	1.756	1.611
79	Caja 82	358.56	1.754	1.650
80	Caja 83	224.82	1.711	0.614
81	Caja 84	241.01	1.752	0.814
82	1	140.61	1.985	0.820
83	2	142.11	1.835	0.796
84	3	134.52	1.775	0.708
85	4	206.00	1.869	0.814
86	5	217.25	1.842	0.885
87	6	229.03	1.899	1.850
88	7	292.06	1.875	0.951
89	8	244.97	1.875	0.821
90	9	477.48	1.905	0.811

91	10	268.15	1.886	0.873
92	11	126.70	1.860	0.841
93	12	179.72	1.847	0.851
94	13	175.48	1.843	0.877
95	14	154.47	1.752	0.581
96	15	154.17	1.782	0.675
97	16	81.60	1.753	0.651
98	17	69.85	1.706	0.598
99	18	220.08	1.790	0.541
100	19	295.87	1.778	0.549
101	20	288.30	1.741	0.570
102	21	242.10	1.751	0.590
103	22	88.42	1.705	0.557
104	23	245.71	1.717	0.531
105	24	112.13	1.756	0.525
106	25	117.30	1.729	0.554
107	26	378.66	1.722	0.578
108	27	178.49	1.707	0.545
109	28	224.74	1.724	0.542
110	29	106.93	1.705	0.567
111	30	96.33	1.702	0.561
112	31	93.25	1.733	0.563
113	32	193.85	1.757	0.523
114	33	137.99	1.791	0.549
115	34	165.56	1.722	0.541
116	35	244.94	1.727	0.526
117	36	282.28	1.796	0.507
118	37	140.06	1.748	0.530
119	38	153.35	1.763	0.527
120	39	251.48	1.757	0.507
121	40	306.21	1.559	0.541
122	41	137.43	1.715	0.500
123	42	152.75	1.714	0.537
124	43	148.62	1.749	0.529
125	44	166.86	1.784	0.521
126	45	156.44	1.796	0.844
127	46	185.58	1.735	0.504
128	47	184.01	1.720	0.506
129	48	189.86	1.798	0.620
130	49	279.85	1.617	0.621
131	50	232.22	1.764	0.623
132	51	211.52	1.781	0.652
133	52	281.65	1.730	0.669
134	53	249.60	1.727	0.646
135	54	252.79	1.702	0.598
136	55	327.49	1.720	0.550
137	56	331.75	1.778	0.560
138	57	279.20	1.774	0.614
139	58	294.74	1.757	0.594
140	59	227.93	1.772	0.593
141	60	101.53	1.700	0.572
142	61	168.52	1.784	0.614
143	62	157.95	1.748	0.558
144	63	333.99	1.742	0.621
145	64	244.00	1.702	0.577
146	65	269.84	1.764	0.631
147	66	220.26	1.752	0.570
148	67	169.59	1.781	0.612

149	68	180.17	1.757	0.546
150	69	388.55	1.724	0.646
151	70	306.61	1.745	0.634
152	71	307.78	1.779	0.630
153	72	381.98	1.717	0.650
154	73	395.18	1.794	0.768
155	74	376.48	1.766	0.526
156	75	293.78	1.782	0.733
157	76	243.21	1.832	0.808
158	77	305.82	1.735	0.589
159	78	245.58	1.741	0.564
160	79	188.58	1.759	0.584
161	80	172.60	1.742	0.668
162	81	301.58	1.751	0.601
163	82	219.52	1.709	0.560
164	83	114.23	1.772	0.641
165	84	258.25	1.778	0.620
166	85	355.54	1.755	0.630
167	86	215.85	1.773	0.767
168	87	243.60	1.799	0.665
169	88	109.46	1.719	0.664
170	89	154.21	1.723	0.566
171	90	261.58	1.794	0.631
172	91	295.56	1.705	0.597
173	92	128.12	1.703	0.626
174	93	179.19	1.746	0.542
175	94	250.14	1.756	0.577
176	95	115.16	1.751	0.687
177	96	196.58	1.709	0.596
178	97	249.56	1.743	0.554
179	98	134.59	1.769	0.561
180	99	167.50	1.748	0.713
181	100	131.54	1.710	0.548
182	101	159.58	1.708	0.559
183	102	197.28	1.767	0.594
184	103	157.58	1.791	0.605
185	104	113.96	1.862	0.762
186	105	179.58	1.700	0.582
187	106	400.12	1.726	0.651
188	107	224.15	1.812	0.611
189	108	165.13	1.846	0.661
190	109	142.50	1.708	0.535
191	110	191.99	1.746	0.642
192	111	241.55	1.784	0.582
193	112	117.73	1.719	0.621
194	113	118.42	1.722	0.544
195	114	150.66	1.729	0.562
196	115	288.11	1.759	0.815
197	116	138.29	1.764	0.588
198	117	110.11	1.796	0.799
199	118	213.96	1.852	0.662
200	119	279.58	1.766	0.682
201	120	300.12	1.700	0.688
202	121	124.15	1.800	0.602
203	122	265.13	1.811	0.600
204	123	242.50	1.722	0.512
205	124	391.99	1.700	0.611
206	125	151.21	1.761	0.558

207	126	317.71	1.717	0.620
208	127	118.42	1.722	0.622
209	128	250.11	1.711	0.612
210	129	188.17	1.719	0.715
211	130	135.29	1.761	0.681
212	131	310.11	1.702	0.211
213	132	255.11	1.811	0.699
214	133	299.85	1.717	0.721
215	134	132.22	1.864	0.723
216	135	111.52	1.799	0.752
217	136	181.65	1.739	0.769
218	137	149.60	1.827	0.746
219	138	352.79	1.785	0.698
220	139	127.49	1.780	0.680
221	140	131.75	1.799	0.670
222	141	379.20	1.751	0.714
223	142	194.74	1.711	0.694
224	143	327.93	1.716	0.693
225	144	201.53	1.782	0.672
226	145	368.52	1.749	0.714
227	146	197.95	1.798	0.658
228	147	133.99	1.711	0.521
229	148	144.00	1.700	0.588
230	149	169.84	1.719	0.531
231	150	281.26	1.792	0.670
232	151	269.59	1.716	0.559
233	152	127.49	1.725	0.650
234	153	131.75	1.744	0.580
235	154	179.20	1.715	0.616
236	155	194.74	1.719	0.511
237	156	127.93	1.702	0.592
238	157	201.53	1.727	0.672
239	158	268.52	1.884	0.714
240	159	257.95	1.711	0.557
241	160	233.99	1.712	0.721
242	161	144.00	1.792	0.677

Anexo 4. Perfil térmico de la reacción de la PCR para la amplificación del gen 16s ARNr

Desnaturalización	94 °C	2 min	
Desnaturalización	94 °C	1 min	30 ciclos
Alineamiento	52-58 °C	1 min	30 ciclos
Extensión	72 °C	1 min	30 ciclos
Elongación final	72 °C	5 min	

Anexo 5. Perfil térmico de la reacción de la PCR para la amplificación del gen Strepto spp

Desnaturalización	94 °C	2 min	
Desnaturalización	94 °C	50 segundos	30 ciclos
Alineamiento	61.4 °C	55 segundos	30 ciclos
Extensión	72 °C	1 min	30 ciclos
Elongación final	72 °C	5 min	

Anexo 6. Crecimiento del aislamiento con código M18. Características de *Salmonella* sp.

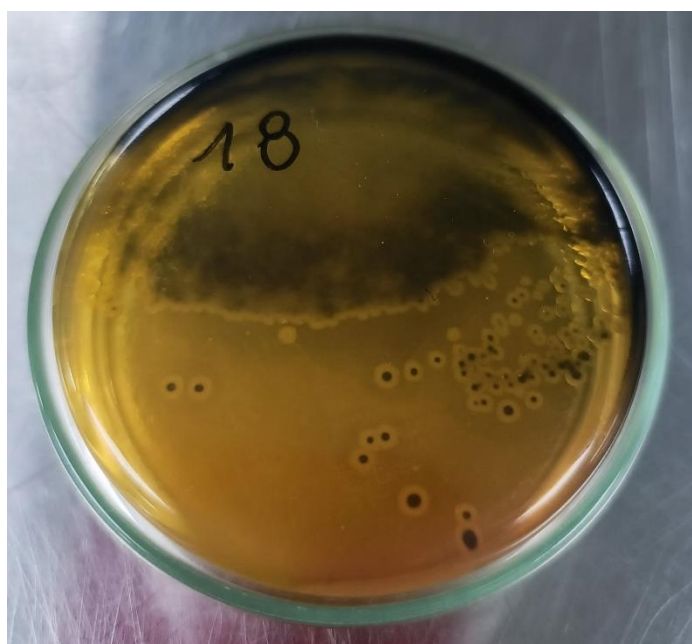


Figura. 1. En medio selectivo y diferencial Salmonella-Shigella (SS agar) se observan colonias bacterianas de apariencia incolora con un centro bien definido, característica asociada a la producción de sulfuro de hidrógeno (H_2S). Las colonias presentan forma redondeada, bordes regulares y superficie lisa. El desarrollo de las características mencionadas es compatible con el patrón fenotípico de *Salmonella* spp., mientras que la ausencia de colonias translúcidas no pigmentadas descarta el crecimiento típico de Shigella. El aspecto macroscópico evidencia una alta selectividad del medio y un comportamiento compatible con enterobacterias productoras de H_2S .