

Caracterización fenotípica y genotípica de aislamientos de *Vibrio cholerae* recuperados de ambientes acuáticos de la ciudad de Resistencia, Argentina

Phenotypic and genotypic characterization of *Vibrio cholerae* isolates recovered from aquatic environments in the city of Resistencia, Argentina

María Fernanda Tracogna¹, María Lucrecia Gariboglio-Vásquez¹, Eduardo José Carpio-Díaz¹, Liliana Silvina Lösch¹, Luis Antonio Merino^{1, a}

¹ Instituto de Medicina Regional, Universidad Nacional del Nordeste, Av. Las Heras 727, Resistencia, Argentina



Citar como: Tracogna MF, Gariboglio-Vásquez ML, Carpio-Díaz EJ, Lösch LS, Merino LA. Caracterización fenotípica y genotípica de aislamientos de *Vibrio cholerae* recuperados de ambientes acuáticos de la ciudad de Resistencia, Argentina. South Health; 2025;2:e004. doi: 10.21142/SH-02-2025-e004

Fecha de recepción: 27/02/2025
Fecha de aceptación: 30/07/2025
Revisado por pares.



© Los autores, 2025. Publicado por la Universidad Científica del Sur (Lima, Perú)

^a Autor correspondiente:
Luis Antonio Merino
lamerino@medreg.unne.edu.ar

Resumen

Los objetivos del presente trabajo fueron aislar *Vibrio cholerae* de fuentes de aguas de uso recreacional, caracterizarlos fenotípicamente y genotípicamente, estudiar mediante métodos moleculares la relación clonal entre los distintos aislamientos y determinar las condiciones ambientales en las cuales se realizaron los hallazgos. Para cada muestra de agua se registraron pH, temperatura, fecha y hora de la recolección de las muestras y la presencia de precipitaciones hasta 72 horas previas al muestreo. Se estudió la producción de diferentes factores de virulencia y la sensibilidad a los antibióticos. La probable relación clonal entre los aislamientos se estudió mediante electroforesis en gel en campo pulsado (PFGE). Sobre 100 muestras de agua se obtuvieron 16 aislamientos de *V. cholerae* no-O1 no-O139 provenientes del Río Negro y Lagunas Francia, Argüello y Colussi. El pH alcalino y la presencia de lluvias previas se relacionó con el hallazgo de esta bacteria en el ambiente. Todos los aislamientos fueron sensibles a todos los antibióticos ensayados y ninguno presentó los factores de virulencia CT and TCP (*ctxA* and *tcpA* El Tor), dos aislamientos resultaron positivos para el factor de virulencia *stn*. Mediante PFGE con la enzima de restricción *SfiI*, se obtuvieron 14 patrones genéticos diferentes. El presente estudio confirma la presencia de *V. cholerae* en aguas recreacionales en una región del noreste argentino, lo que refuerza la idea de realizar vigilancia de estos patógenos en ambientes acuáticos.

Palabras Clave: *Vibrio cholerae*; Aguas recreacionales; Clonalidad

Abstract

The objectives of this study were to isolate *Vibrio cholerae* from recreational water sources, characterize them phenotypically and genotypically, study the clonal relationship between the different isolates using molecular methods, and determine the environmental conditions under which the findings were made. For each water sample, pH, temperature, date and time of sampling, and the presence of rainfall up to 72 hours prior to sampling were recorded. The production of different virulence factors and sensitivity to antibiotics were studied. The probable clonal relationship between the isolates was studied using pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). From 100 water samples, 16 non-O1 non-O139 *V. cholerae* isolates were obtained from the Río Negro and Lagoons Francia, Argüello, and Colussi. Alkaline pH and the presence of previous rainfall were related to the finding of this bacteria in the environment. All isolates were sensitive to all antibiotics tested and none presented the CT and TCP virulence factors (*ctxA* and *tcpA* El Tor), two isolates were positive for the *stn* virulence factor. Using PFGE with the restriction enzyme *SfiI*, 14 different genetic patterns were obtained. The present study confirms the presence of *V. cholerae* in recreational waters in a region of northeastern Argentina, which reinforces the idea of carrying out surveillance of these pathogens in aquatic environments.

Keywords: *Vibrio cholerae*; Recreational water; Clonality

Introducción

Las aguas destinadas a uso recreacional pertenecen a cuerpos superficiales que se utilizan principalmente para baño y actividades deportivas (Saracho *et al.*, 2006). En los asentamientos de máxima concentración poblacional e industrial es donde surgen los mayores requerimientos de medios de esparcimientos por parte de una población, debido a que los balnearios públicos son una alternativa para satisfacer ese derecho, especialmente aquellas de menores recursos económicos (Acuña del Pino *et al.*, 1998).

En el mundo desarrollado la conexión entre agua, higiene y salud es clara y las enfermedades debidas al agua o relacionadas con ella están entre las causas más comunes de enfermedad y de muerte, afectando principalmente a los pobres en países en vías de desarrollo; además, los niños, ancianos y los individuos inmunocomprometidos son los más vulnerables (Botero de Ledesma, 2005).

Entre los patógenos bacterianos relacionados en forma directa o indirecta con el agua pueden mencionarse los siguientes: *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Campylobacter* spp, *Vibrio* spp, *Aeromonas* spp y *Escherichia coli* O157 (WHO, 2004).

Vibrio cholerae es un miembro autóctono de la flora microbiana de las aguas medianamente salinas típicas de estuarios y pantanos costeros (Colwell *et al.*, 1977) y aunque sólo *V. cholerae* O1 y O139 han causado epidemias de cólera, algunas cepas pertenecientes a serogrupos no-O1 no-O139 han sido aisladas de pacientes con síntomas que van desde diarrea leve hasta deshidratación severa semejante a cólera. Además, otros serogrupos pueden causar infecciones extraintestinales como infecciones cutáneas, neumonía, meningoencefalitis, septicemia o infecciones en el oído externo. Estas últimas pueden ocurrir al nadar o navegar en aguas infectadas o después de manipular mariscos crudos contaminados (Borroto, 1997; Rozemeijer *et al.*, 2009).

La vigilancia de los patógenos como *V. cholerae* presentes en ambientes acuáticos es la clave para entender la epidemiología de las enfermedades humanas debidas a estos microorganismos.

Las epidemias regionales de cólera ocurren estacionalmente y están asociadas a períodos de lluvias excesivas, temperaturas cálidas e incrementos en las poblaciones de plancton (Kuhn *et al.*, 2005), lo cual justifica el estudio de las condiciones ambientales relacionadas con la recuperación de *V. cholerae* en fuentes acuáticas.

Los objetivos del presente trabajo fueron detectar *V. cholerae* aislados de fuentes de aguas de uso recreacional de la Provincia del Chaco, caracterizarlos fenotípica y genotípicamente, estudiar mediante métodos moleculares la relación clonal entre los distintos aislamientos y determinar las condiciones ambientales en las cuales se realizaron los hallazgos.

Materiales y métodos

Para la realización del presente trabajo se aplicó un diseño observacional descriptivo con recolección prospectiva de datos, compatible con un estudio de investigación ambiental.

Debido a la inexistencia de normativa nacional para el estudio de ambientes acuáticos con fines de investigación, se tuvieron en cuenta las consideraciones previamente publicadas en manuales, guías y otros trabajos científicos (Borroto, 1997; Huq, 1990).

Se seleccionaron los siguientes ríos y lagunas utilizados con fines recreativos por los habitantes de la ciudad de Resistencia, teniendo en cuenta la proximidad a áreas altamente urbanizadas: Riacho Barranqueras (-27.4751, -58.8891), Río Negro (-27.4367, -58.9794), Laguna Argüello (-27.4535, -58.9735), Laguna Francia (-27.4399, -58.9660) y Laguna Colussi (-27.4309, -58.9661).

La ciudad de Resistencia se ubica en una región subtropical sin estación seca con veranos calurosos e inviernos templados, por ello se tomaron muestras en las cuatro estaciones del año, siempre que las condiciones de los entornos acuáticos lo permitieran, evitando momentos de sequía o inundaciones, ya que se hacía imposible el acceso a los sitios de muestreo.

En cada sitio de muestreo se recolectaron 5 litros de agua. En el caso de los ríos, la recolección se realizó a 1 metro desde la costa enfrentando la corriente. En las lagunas, las muestras fueron tomadas a 1 metro de la costa, generando una corriente con el recipiente al momento del muestreo. Las muestras de agua se mantuvieron refrigeradas hasta su procesamiento.

Para cada muestreo se registraron pH, temperatura, fecha y hora de la recolección de las muestras. Adicionalmente se registró si se verificaron precipitaciones hasta 72 horas previas la fecha del muestreo.

Un litro de cada muestra fue filtrado a través de membranas de nitrocelulosa (Microclar, Argentina) de 0,45 µm (Bourke, Cossins, 1986). Cuando la turbidez del agua lo requirió, se utilizó más de una membrana filtrante hasta lograr filtrar todo el volumen de muestra.

Luego de la filtración, las membranas fueron colocadas en Agua Peptonada Alcalina (Laboratorios Britania, Argentina) y se incubaron a 35±2°C durante 24 hs. Para el aislamiento de *Vibrio*, el caldo de enriquecimiento fue subcultivado en agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa (TCBS) (Laboratorios Britania, Argentina) durante 24 horas a 35±2°C.

Las colonias amarillas compatibles con *Vibrio* en medio TCBS se repicaron en agar Agar Tripteína Soya (Laboratorios Britania, Argentina). A las 24 horas de incubación se realizaron pruebas de identificación bioquímica previamente descriptas (OPS/OMS, 2010).

A los aislamientos identificados bioquímicamente como *Vibrio* se les realizó la identificación serológica mediante aglutinación en portaobjetos con el antisuero O1, identificándose como O1 (aglutinación positiva) o no O1 (aglutinación negativa) (WHO, 2003).

La identificación de *V. cholerae* se completó mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) con los cebadores pVC-F2 y pVCm-R1 para *V. cholerae*, VCO1-F2 y VCO1-R2 para serotipo O, VCO139-F2 y VCO139-R2 para serotipo O139, utilizando un protocolo previamente descrito (González Fraga *et al.*, 2009).

Los aislamientos de *V. cholerae* fueron enviados al Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán" a fin de completar la identificación donde se ensayaron pruebas de aglutinación en placa utilizando sueros policlonales (anti-O139, O1, Ogawa e Inaba).

Adicionalmente, sobre los aislamientos se aplicaron diferentes protocolos de PCR para detectar genes que codifican los siguientes factores de virulencia: *ctxA* (que codifica la subunidad A de CT), *tcpA* El Tor (que codifica la unidad estructural del factor de colonización TCP, alelo El Tor, *TcpA*), *tcpI* (que codifica una proteína asociada a la membrana interna y reguladora de la síntesis de *TcpA*) y *stn* (que codifica la toxina termoestable NAG-ST) (González Fraga *et al.*, 2009).

En todos los aislamientos se estudió la sensibilidad a los siguientes antibióticos: ampicilina, ciprofloxacina, ácido nalidíxico, trimetoprima/sulfametoxazol, cefotaxima, ampicilina/sulbactam mediante el método de difusión con discos (Becton Dickinson, EUA) siguiendo las recomendaciones del Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015).

Los datos obtenidos fueron registrados en una base de datos confeccionada en Microsoft Excel® e ingresados en el programa EpiInfo® 6.0 para su posterior análisis. Para la comparación de medias entre variables numéricas se utilizó la prueba t de Student y para comparar variables categóricas se aplicó la prueba de chi cuadrado. Se consideraron estadísticamente significativos resultados con valores de $p < 0,05$.

Para determinar la probable relación clonal entre los aislamientos de *V. cholerae* aislados en la ciudad de Resistencia se utilizó el protocolo de electroforesis en gel en campo pulsado (PFGE) estandarizado de la Red PulseNet Internacional para *V. cholerae*, la restricción se realizó con la enzima *SfiI* y la diversidad clonal entre aislamiento se confirmó por PFGE mediante digestión con *NotI* (González Fraga *et al.*, 2009).

Para estudios de relación clonal con aislamientos de diversos orígenes se realizó la comparación con patrones de obtenidos a partir de *Vibrios* de origen ambiental y humano, como sería otro aislamiento de *V. cholerae* O1 representativo de la cepa epidémica de la década del 90, uno de *V. cholerae*

O1 no toxigénico denominado "variante de Tucumán" y con otros aislamientos de *V. cholerae* O1 no toxigénicos recuperados de otras provincias del norte argentino.

Los patrones de PFGE se analizaron por inspección visual y mediante el programa BioNumerics versión 4.6 (Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Bélgica). Los dendrogramas se construyeron utilizando el coeficiente de similitud de Dice y el algoritmo UPGMA. Para la interpretación de las bandas se tuvieron en cuenta los criterios previamente publicados (Tenover *et al.*, 1995).

Resultados

Sobre un total de 100 muestras de agua estudiadas se obtuvieron 16 aislamientos de *V. cholerae*, todos identificados genotípicamente mediante PCR como *V. cholerae* no O1 no O139.

Los sitios de los cuales se obtuvieron aislamientos de *V. cholerae* son los siguientes: Río Negro, Laguna Francia, Laguna Argüello y Laguna Colussi.

En la tabla 1 se muestran las condiciones ambientales en las cuales se produjo la recuperación de *V. cholerae*.

Tabla 1: Variables registradas según muestras totales, positivas y negativas para *Vibrio cholerae*.

Variable	Muestras positivas N=16		Muestras negativas N=84		Total muestras N=100	
	Media	Rango	Media	Rango	Media	Rango
pH	8	7,4 - 9,3	7,3	5,0 - 9,6	7,4	5,0 - 9,6
Temperatura (°C)	25,7	17,7 - 32,6	25,1	15,8 - 30,5	25,2	15,8 - 32
Rto. coliformes (UFC/ml)	8,3x10 ⁷	1x10 ³ - 1x10 ⁹	2,0x10 ⁶	1,1x10 ² - 1x10 ⁸	1,3x10 ⁷	1,1x10 ² - 1x10 ⁹
Rto. <i>E. coli</i> (UFC/ml)	2x10 ⁴	1x10 ² - 1x10 ⁵	1,3x10 ⁴	5 - 1x10 ⁵	1,4x10 ⁴	5 - 1x10 ⁵

El pH alcalino en las muestras de agua se relacionó con la presencia de esta bacteria en el ambiente ($p=0,036$).

Once de los 16 aislamientos fueron recuperados luego de lluvias durante las 72 horas previas al muestreo ($p=0,04$).

La detección de *Vibrio* se relacionó con elevados recuentos de coliformes y *E. coli*, pero éstas no fueron condiciones suficientes para asegurar su presencia.

En el presente trabajo el rango de temperatura del agua a la cual se han aislado *V. cholerae* fue de 17,7-32,6°C, lo cual no influyó en la recuperación de este patógeno, pero se debe destacar que no se obtuvieron muestras de agua con temperaturas inferiores a 15°C.

La totalidad de los aislamientos fueron sensibles a los antibióticos ensayados y no presentaron los factores de virulencia CT y TCP, tradicionalmente asociados en las cepas

epidémicas. Solamente dos aislamientos provenientes del Río Negro resultaron positivos para el gen *stn*.

Sobre los 16 aislamientos de *V. cholerae* no O1 no O139 analizados mediante PFGE con la enzima de restricción *SfiI*, se obtuvieron 14 patrones (pulsotipos) diferentes. Tres de los aislamientos provenientes de las Lagunas Francia y Argüello presentaron pulsotipos indistinguible con la enzima primaria (patrón ARKZGS12.0116) (Figura 1).

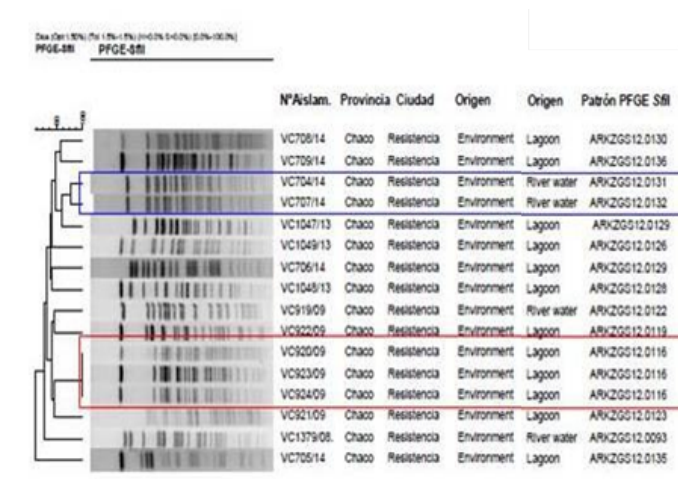


Figura 1: Dendrograma obtenido tras digestión con la enzima *SfiI* de los aislamientos ambientales de *V. cholerae* provenientes de ambientes acuáticos de la ciudad de Resistencia.

El rectángulo azul incluye 2 aislamientos con el mismo patrón de PFGE provenientes del Río Negro. El rectángulo rojo incluye tres aislamientos con el mismo patrón de PFGE provenientes de diferentes lagunas. Los 5 aislamientos fueron recuperados en distintos momentos de muestreo.

La clonalidad de los aislamientos obtenidos luego de la digestión con *SfiI* se confirmó al utilizar la enzima de restricción *NotI*.

Los dos aislamientos de *V. cholerae* que resultaron positivos para el gen *stn* presentaron una alta similitud genética, del 91,3% con *SfiI* y del 97,3% con *NotI*, como se mencionó anteriormente ambas recuperadas del río Negro en dos muestreos consecutivos.

Los subtipos de PFGE-*SfiI* identificados fueron comparados con subtipos genéticos de *V. cholerae* de la Base de Datos Nacional (BDN) que se construye con una selección de casos esporádicos y de brote derivados al Servicio Enterobacterias del Instituto Dr. Carlos G. Malbrán.

Se observó que los subtipos genéticos más frecuentes en este estudio no se han identificado anteriormente en la BDN, luego de compararlos con aquellos *stn+* incluidos en la BDN (Figura 2).

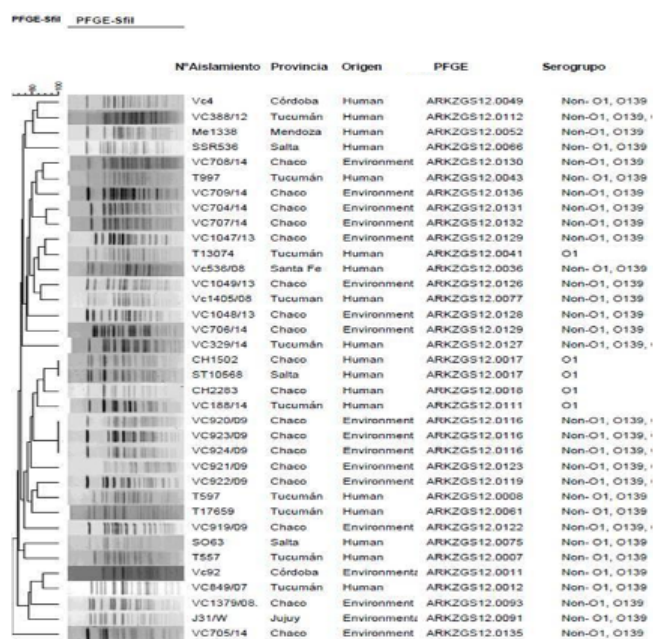


Figura 2: Dendrograma de relación genética de los aislamientos ambientales de *V. cholerae* no O1 no O139 obtenidos en la provincia del Chaco con otros aislamientos de origen humano y ambiental de la BDN con el coeficiente de Dice obtenido con la enzima *SfiI*.

Discusión

Aunque diversos estudios han encarado la detección de *V. cholerae* en aguas con resultados bastante disímiles, este es el primer estudio que se realiza sobre aislamientos de ambientes acuáticos urbanos utilizados con fines recreacionales en el Nordeste Argentino.

Según estudios previos, para identificar las áreas vulnerables y las poblaciones en riesgo, es clave determinar las condiciones ecológicas del agua que promueven la persistencia y crecimiento de *V. cholerae*, y de este modo, desarrollar sistemas de alerta temprana (Córdoba-Meza *et al.*, 2022)

En cuanto a variables ambientales, los mayores hallazgos en aguas de pH alcalino concuerdan con otros trabajos publicados donde se comprueba que un factor de estrés importante para la supervivencia del *V. cholerae* es el pH, dado que esta bacteria es muy sensible a la acidez (Boroto, 1998). En relación con esta variable, un estudio de laboratorio realizado por Miller *et al.* reveló que el pH óptimo para su supervivencia en el agua a 25°C es de 7 a 8,5 cuando la salinidad es moderada, y de 7,5 a 9 cuando es baja (Miller, Drasar, 1984).

Si hacemos foco en el recuento de coliformes en el agua, notamos que no hubo relación directa con recuentos altos y la presencia de vibrios, lo que concuerda con lo hallado en varios estudios que han demostrado una falta de correlación entre la presencia de bacterias fecales coliformes y la de cepas toxigénicas y no toxigénicas de *V. cholerae* O1 biotipo El Tor en reservorios acuáticos (Colwell *et al.*, 1981; Hood, 1982); ésto sugiere que el agente patógeno puede sobrevivir en aguas relativamente libres de contaminación fecal humana. Esta idea ha sido confirmada posteriormente por medio de investigaciones que han apoyado la hipótesis de

que el microorganismo es un miembro autóctono de la flora microbiana de las aguas dulces y medianamente salinas sin contaminación fecal humana (Miller, Drasar, 1984; Colwell *et al.*, 1981; Bourke *et al.*, 1986; Singleton, 1982).

Según publicaciones previas, la temperatura óptima para el desarrollo de *V. cholerae* oscila entre 30-37°C y el crecimiento se inhibe a temperaturas menores a 15°C. Estos resultados coinciden con estudios realizados por otros autores (Borroto, 1998; Lee *et al.*, 1982; Tamplin *et al.*, 1991). Tal es así que según un estudio realizado en Kent, Reino Unido, la mayor parte de los aislamientos ambientales de cepas no toxígenas de *V. cholerae* O1 biotipo El Tor tuvieron lugar durante el verano (Lee *et al.*, 1982). En las aguas frías (12°C) de la parte peruana del lago Titicaca, que se encuentra a más de 3000 m sobre el nivel del mar, *V. cholerae* O1 biotipo El Tor (de toxigenicidad no investigada) fue aislado ocasionalmente y en muy bajas concentraciones (Tamplin *et al.*, 1991). En cambio, los aislamientos de *V. cholerae* no-O1, no-O139 se recuperaron principalmente en primavera y verano, pero también en los meses de otoño e invierno (González Fraga *et al.*, 2007; Costagliola *et al.*, 2000; Rivas *et al.*, 1996). Un total de treinta aislamientos de *V. cholerae* fueron recuperados durante la estación cálida en aguas estuarinas en Japón, aunque ninguno de ellos albergaba el gen *ctxAB* (Miyoshi *et al.*, 2024).

Las lluvias previas al muestreo podrían hacer descender la salinidad de ciertos ambientes acuáticos favoreciendo la recuperación de *Vibrio* (Kuhn *et al.*, 2005), lo cual coincide con los hallazgos del presente trabajo.

Debe destacarse la influencia de los ecosistemas acuáticos estacionarios (lagunas y el Río Negro con el flujo interrumpido) en la positividad de las muestras. Esto concuerda con trabajos publicados donde se observa que la captación de nutrientes por parte de *Vibrio* se dificulta en ambientes turbulentos y se facilita en aguas tranquilas, lo que contribuye a su supervivencia (Borroto, 1998).

En cuanto a la susceptibilidad antimicrobiana de aislamientos ambientales *V. cholerae*, en diferentes regiones del mundo fue reportada la resistencia a ampicilina, tetraciclina, trimetoprima/sulfametoxazol, cloranfenicol y polimixina B (Dalsgaard *et al.*, 1995). El análisis de la secuencia del genoma completo de cepas clínicas y ambientales de *V. cholerae* reveló que el genoma de la mayoría de los aislamientos recientes alberga elementos conjugativos integradores (ICE), plásmidos, superintegrón, elementos transponibles y secuencias de inserción, que son los portadores clave de los rasgos genéticos que codifican la función de resistencia a los antimicrobianos. (Das *et al.*, 2020). En Argentina, entre 1992 y 2000 se encontró muy baja resistencia a los agentes antimicrobianos tanto en aislamientos obtenidos a partir de muestras humanas como de muestras ambientales (Petroni *et al.*, 2002). En otro estudio se aisló *V. cholerae* tanto de aguas residuales como de lagunas con predominio del serotipo O1, pero tanto las cepas O1 como las no O1 mostraron una resistencia de alto nivel a las sulfonamidas, quinolonas, fluoroquinolonas y una sensibilidad moderada a las penicilinas y tetraciclinas. (Kalpy *et al.*, 2020). Dado que las diferentes poblaciones bacterianas coexisten en el ecosistema acuático, *V. cholerae* puede adquirir plásmidos

de resistencias de otras bacterias, la vigilancia continua de la resistencia antimicrobiana permite detectar la emergencia de aislamientos multirresistentes (González Fraga, 2007).

La resistencia antimicrobiana de *V. cholerae* se reporta en todas las regiones del mundo, otro hallazgo importante fue que la mayoría de las cepas resistentes se deben a la composición genética del elemento SXT que confiere resistencia a trimetoprima/sulfametoxazol pero en la revisión publicada por Murtala y cols. se informan otros factores como bomba de eflujo, presencia de enzimas y mutaciones espontáneas. (Murtala *et al.*, 2022),

Los resultados de la serotipificación concuerdan con datos obtenidos en estudios de vigilancia realizados en la Argentina de 1992 a 2007, donde se identificaron alrededor de 3.500 aislamientos de *V. cholerae* O1 y no-O1 provenientes de distintas regiones del país; *V. cholerae* O1 fue aislado únicamente durante los períodos epidémicos, principalmente en el norte del país y en los meses de verano. No es extraño el hallazgo de *V. cholerae* no O1/no O139 en ambientes acuáticos. En áreas costeras de Francia, tres cepas identificadas como *V. cholerae* por amplificación del 16S-23S rRNA ISR fueron confirmadas como non-O1/non-O139 (Hervio-Heath *et al.*, 2002). Gyraite y cols detectaron *V. cholerae* en todos los sitios de muestreos de aguas costeras en el sudeste del Mar Báltico (Gyraite *et al.*, 2020).

Las cepas ambientales de *V. cholerae* O1 y no O1 son a menudo menos patógenas que los aislados clínicos, es decir, no producen la toxina del cólera (CT) ni la toxina termoestable (NAG-ST) (Nair *et al.*, 1988; Yamamoto *et al.*, 1983).

Entre las distintas técnicas para estudiar la huella molecular de aislamientos, la PFGE ha demostrado ser la más eficaz en la investigación epidemiológica de *V. cholerae* y se considera el método de referencia para la diferenciación de aislamientos cuando se utilizan los patrones obtenidos con dos enzimas de restricción (Tenover *et al.*, 1997). Este método fue utilizado en numerosas investigaciones epidemiológicas en Argentina y en otros países para diferenciar cepas endémicas y no endémicas (Riaño-Pachón *et al.*, 2003; González Fraga *et al.*, 2009; Lü *et al.*, 2017; Jalalizadeh *et al.*, 2024).

En cuanto a los patrones obtenidos por PFGE en el presente estudio con ambas enzimas de restricción, es posible confirmar su utilidad para determinar relaciones clonales, sobre todo en aislamientos con proximidad espaciotemporal y para separarlos de aquellos obtenidos en momentos y sitios muy alejados.

La aplicación de esta metodología permitió diferenciar entre si a los aislamientos obtenidos en el presente estudio y con otros recuperados en diferentes provincias argentinas.

La detección de pulsotipos idénticos en diferentes momentos permitió certificar la permanencia de cepas similares en el mismo ambiente y también la existencia de clones similares en diferentes sitios estudiados, indicando una posible conexión entre los cuerpos de agua involucrados.

Finalmente, es importante destacar el aislamiento de dos cepas de *V. cholerae* no O1 no O139 ambientales productores de toxina termoestable. Esto significa que poseen un mayor grado de patogenicidad en comparación con otras cepas comúnmente aisladas en el ambiente acuático.

Conclusiones

El presente estudio confirma la presencia de *V. cholerae* en aguas recreacionales en una región del noreste argentino.

Por PFGE se identificaron dos subtipos genéticos indistinguibles entre los 16 aislamientos de *V. cholerae* de origen ambiental de la provincia del Chaco.

La presencia de dos aislamientos de *V. cholerae* *stn* + recuperados del Río Negro a partir de dos muestras durante el mes de enero, señala la persistencia del microorganismo en el ambiente.

Ningún pulsotipo de *V. cholerae* fue identificado anteriormente en la BDN demostrando gran variabilidad genética de este microorganismo.

La detección de *V. cholerae* en aguas de uso recreacional en áreas urbanas sugiere que este ecosistema posee condiciones ambientales propicias para constituirse en un reservorio para esta especie, lo que favorecería el resurgimiento del cólera o la emergencia de enfermedades relacionadas con esta bacteria.

Este estudio sienta las bases para profundizar en la investigación de *V. cholerae* en ecosistemas acuáticos nacionales, y para reforzar los sistemas de vigilancia epidemiológica en las instituciones de salud, especialmente en áreas con alta concentración de población y aguas urbanas de uso recreacional.

Agradecimientos

A la Secretaría General de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional del Nordeste por el apoyo a través de dos becas de investigación. Al personal del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas INEI/ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán por recibir a M. F. Tracogna y permitirle realizar la tipificación serológica y el estudio mediante PCR y PFGE de los aislamientos.

Financiamiento:

Secretaría General de Ciencia y Técnica, Universidad Nacional del Nordeste. Instituto de Medicina Regional, Universidad Nacional del Nordeste.

Conflicto de interés:

No se declaran conflictos de interés

Referencias

- Acuña del Pino NB, Abramovich B, Meyer R, Haye MA, Gilli MI. Evaluación de niveles de contaminación bacteriana en aguas recreacionales. Factores intervinientes. Revista FABICIB. 1998;2:61-67. doi: [10.14409/fabicib.v2i1.598](https://doi.org/10.14409/fabicib.v2i1.598)
- Boroto R. La ecología de *Vibrio cholerae* serogrupo O1 en ambientes acuáticos. Rev Panam Salud Pública. 1997;1(1):3-8. <https://iris.paho.org/handle/10665.2/9134>
- Boroto R. Supervivencia de *Vibrio cholerae* O1 en agua dulce superficial y cólera endémico: una hipótesis geoecológica. Rev Panam Salud Pública. 1998;4:371-374. <https://iris.paho.org/handle/10665.2/8551>
- Botero de Ledesma L. Calidad de Aguas. XXIX Jornadas Venezolanas de Microbiología. Cumaná, Venezuela. 2025.
- Bourke AT, Cossins YN, Gray BR, Lunney TJ, Rostron NA, Holmes RV, et al. Investigation of cholera acquired from the riverine environment in Queensland. Med J Aust. 1986;144:229-234. doi: [10.5694/j.1326-5377.1986.tb115883.x](https://doi.org/10.5694/j.1326-5377.1986.tb115883.x)
- Clinical Laboratory Standards Institute. Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria. CLSI M45. 3rd ed. CLSI, Wayne, USA. 2016. <https://em100.edaptivedocs.net/GetDoc.aspx?doc=CLSI%20M45%20ED3:2016&scope=user>
- Colwell RR, Kaper J, Joseph SW. *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, and the others *Vibrios*: occurrence and distribution in Chesapeake Bay. Science. 1977;198:394-396. <https://www.science.org/doi/10.1126/science.198.4315.394>
- Colwell RR, Seidler RJ, Kaper J, Joseph SW, Garges S, Lockman H, et al. Occurrence of *Vibrio cholerae* serotype O1 in Maryland and Louisiana estuaries. Appl Environ Microbiol. 1981;41:555-558. doi: [10.1128/aem.41.2.555-558.1981](https://doi.org/10.1128/aem.41.2.555-558.1981)
- Córdoba-Meza T, Espinosa-Díaz LF, Vivas-Aguas LJ. Occurrence and distribution of cultivable *Vibrio cholerae* in Ciénaga Grande de Santa Marta, Colombian Caribbean. Acta Biol Colomb. 2022;27:199-207. doi: [10.15446/abc.v27n2.92057](https://doi.org/10.15446/abc.v27n2.92057)
- Costagliola M, López A, Malaspina A, Guerrero R, Medina D, Odizzio M, et al. Estudio de la presencia de *V. cholerae* en la Zona Común de Pesca Argentino-Uruguaya: período 1992-1996. Frente Marítimo. 2000;18:53-58. <https://ctmfm.org/wp-content/uploads/2021/08/Costagliola-et-al.pdf>
- Dalsgaard A, Serichantalergs O, Pitarangsi C, Echeverria P. Molecular characterization and antibiotic susceptibility of *Vibrio cholerae* non-O1. Epidemiol Infect. 1995;114:51-56. doi: [10.1017/s0950268800051906](https://doi.org/10.1017/s0950268800051906)
- Das B, Verma J, Kumar P, Ghosh A, Ramamurthy T. Antibiotic resistance in *Vibrio cholerae*: Understanding the ecology of resistance genes and mechanisms. Vaccine. 2020;38 Suppl 1:A83-A92. doi: [10.1016/j.vaccine.2019.06.031](https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.06.031)
- Fraga SG, Pichel M, Costagliola M, Cecilia M, Jurquiza V, Peressutti S, et al. Environment and virulence factors of *Vibrio cholerae* strains isolated in Argentina. Appl Microbiol. 2007;103:2448-2456. doi: [10.1111/j.1365-2672.2007.03468.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03468.x)
- Fraga SG, Villagra de Trejo A, Pichel M, Figueroa S, Merletti G, Caffer MI, et al. Caracterización de aislamientos de *Vibrio cholerae* no-O1, no-O139 asociados a cuadros de diarrea. Rev Argent Microbiol. 2009;41:11-19. <https://www.redalyc.org/pdf/2130/213016784003.pdf>
- Gyrate G, Katarzytė M, Overlingė D, Vaičiūtė D, Jonikaitė E, Schernewski G. Skip the Dip — Avoid the risk? Integrated Microbiological Water Quality Assessment in the South-Eastern Baltic Sea Coastal Waters. Water. 2020;12:3146. doi: [10.3390/w12113146](https://doi.org/10.3390/w12113146)
- Hervio-Heath D, Colwell RR, Derrien A, Robert-Pillot A, Fournier JM, Pommeuy M. Occurrence of pathogenic *Vibrios* in coastal areas of France. J Appl Microbiol. 2002;92:1123-1135. doi: [10.1046/j.1365-2672.2002.01663.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01663.x)
- Hood MA, Ness GE. Survival of *Vibrio cholerae* and *Escherichia coli* in estuarine waters and sediments. Appl Environ Microbiol. 1982;43:578-584. doi: [10.1128/aem.43.3.578-584.1982](https://doi.org/10.1128/aem.43.3.578-584.1982)
- Huq A, Colwell RR, Rahman R, Ali A, Chowdhury MA, Parveen S, et al. Detection of *Vibrio cholerae* O1 in the aquatic environment by fluorescent-monoclonal antibody and culture methods. Appl Environ Microbiol. 1990;56:2370-2373. doi: [10.1128/aem.56.8.2370-2373.1990](https://doi.org/10.1128/aem.56.8.2370-2373.1990)
- Jalalizadeh F, Njamkepo E, Weill FX, Goodarzi F, Rahnamaye-Farzami M, Sabourian R, et al. Genetic approach toward linkage of Iran 2012-2016 cholera outbreaks with 7th pandemic *Vibrio cholerae*. BMC Microbiol. 2024;24:33. doi: [10.1186/s12866-024-03185-9](https://doi.org/10.1186/s12866-024-03185-9)
- Kalpy J, Sabine V, Aboubakar SD, Iydie NA, Allico JD, Mady N, et al. Resistance profile of *Vibrio* spp. strains collected from lagoon bays and wastewater in the city of Abidjan, Côte d'Ivoire, from January to June 2017. Open Microbiol J. 2020;14:297-303. doi: [10.2174/1874434602014010297](https://doi.org/10.2174/1874434602014010297)
- Khun K, Campbell-Lendrum D, Haines A, Cox J. Using climate to predict infectious disease epidemics. WHO, Ginebra, Suiza. 2005. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/43379/9241593865.pdf?sequence=1>
- Lee JV, Bashford DJ, Donovan TJ, Furniss AL, West PA. The incidence of *Vibrio cholerae* in water, animals, and birds in Kent, England. J Appl Bacteriol. 1982;52:281-291. doi: [10.1111/j.1365-2672.1982.tb04852.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1982.tb04852.x)
- Lü H, Yuan Y, Sun N, Bi Z, Guan B, Shao K, et al. Characterization of *Vibrio cholerae* isolates from 1976 to 2013 in Shandong Province, China. Braz J Microbiol. 2017;48:173-179. doi: [10.1016/j.bjm.2016.09.013](https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.09.013)
- Miller CJ, Drasar BS, Feachem RG. Response of toxigenic *Vibrio cholerae* O1 to physico-chemical stress in aquatic environments. J Hyg. 1984;93:475-495. doi: [10.1017/s0022172400065074](https://doi.org/10.1017/s0022172400065074)
- Miyoshi S-i, Kurata M, Hirose R, Yoshikawa M, Liang Y, Yamagishi Y, et al. Isolation of *Vibrio cholerae* and *Vibrio vulnificus* from Estuarine waters, and genotyping of *V. vulnificus* isolates using Loop-Mediated Isothermal Amplification. Microorganisms. 2024;12:877. doi: [10.3390/microorganisms12050877](https://doi.org/10.3390/microorganisms12050877)
- Murtala R, Bashir A, Aliyu IA, Sale KA. Systematic review on the antibacterial resistance of *Vibrio cholerae*. UMYU Scientifica. 2022;1:60-66. doi: [10.56919/usc.1122.009](https://doi.org/10.56919/usc.1122.009)
- Nair GB, Oku Y, Takeda Y, Ghosh A, Ghosh RK, Chattopadhyay S, et al. Toxin profiles of *Vibrio cholerae* non-O1 from environmental sources in Calcutta, India. Appl Environ Microbiol. 1988;54:3180-3182. doi: [10.1128/aem.54.12.3180-3182.1988](https://doi.org/10.1128/aem.54.12.3180-3182.1988)
- Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud. Procedimientos para la búsqueda de *Vibrio cholerae* en muestras ambientales. 2010. OPS/OMS, Washington D. C., EE.UU., 2010. https://www.paho.org/sites/default/files/Muestreo_ambiental_V_cholerae.pdf
- Petroni A, Corso A, Melano R, Cacace ML, Bru AM, Rossi A, et al. Plasmidic extended-spectrum beta-lactamases in *Vibrio cholerae* O1 El Tor isolates in Argentina. Antimicrob Agents Chemother. 2002;46:1462-1468. doi: [10.1128/AAC.46.5.1462-1468.2002](https://doi.org/10.1128/AAC.46.5.1462-1468.2002)
- Riaño-Pachón DM, Valenzuela de Silva EM, Mantilla JR, Agudelo C. Diversidad genética y estructura de la población de *Vibrio cholerae* en Colombia. Rev Colomb Biotecnol. 2003;5:36-44. <https://www.redalyc.org/pdf/776/77650105.pdf>
- Rivas M, Cacace ML, Ayala LT, Baschkier A, Miliwebsky E, Caffer MI. Casos de gastroenteritis asociados a *Vibrio cholerae* no O1 en Orán, Salta. Rev Argent Microbiol 1996;28:163-169.
- Rozemeijer W, Korswagen LA, Voskuyl AE, Budding AE. *Vibrio cholerae* non O1 non O139 infections in an immunocompromised patient returning from Spain, July 2009. Euro Surveill. 2009;14:19298. <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/ese.14.32.19298-en>
- Saracho M, Segura L, Moyano P, Rodríguez N, Carignano E. Calidad del agua del Río del Valle, Catamarca, para uso recreativo. Revista Ciencia y Técnica. 2006;9:1-14. <https://editorial.unca.edu.ar/Publicacione%20on%20line/CIENCIA%20Y%20TECNOLOGIA/Rev.%20CyT%20PDF/RevCyT12/cuatro.pdf>

- Singleton FL, Attwell RW, Jangi MS, Colwell RR. Influence of salinity and organic nutrient concentration on survival and growth of *Vibrio cholerae* in aquatic microcosms. Appl Environ Microbiol. 1982;43:1080-1085. doi: [10.1128/aem.43.5.1080-1085.1982](https://doi.org/10.1128/aem.43.5.1080-1085.1982)
- Tamplin ML, Carrillo Parodi C. Environmental spread of *Vibrio cholerae* in Peru. Lancet. 1991;338:1216-1217. doi: [10.1016/0140-6736\(91\)92089-k](https://doi.org/10.1016/0140-6736(91)92089-k)
- Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: Criteria for bacterial strain typing. J Clin Microbiol. 1995;33:2233-2239. doi: [10.1128/jcm.33.9.2233-2239.1995](https://doi.org/10.1128/jcm.33.9.2233-2239.1995)
- Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV. How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections: a review for healthcare epidemiologists. Molecular Typing Working Group of the Society for Healthcare Epidemiology of America. Infect Control Hosp Epidemiol. 1997;18:426-439. doi: [10.1086/647644](https://doi.org/10.1086/647644)
- WHO. Manual for the laboratory identification and antimicrobial susceptibility testing of bacterial pathogens of public health importance in the developing world: *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Salmonella* serotype Typhi, *Shigella*, and *Vibrio cholerae*. World Health Organization, Ginebra, Suiza. 2003. <https://iris.who.int/handle/10665/68554>
- WHO. Waterborn zoonoses: Identification, causes and control. IWA Publishing, Londres, Reino Unido. 2004. http://www.who.int/water_sanitation_health/diseases/zoonoses.pdf
- Yamamoto K, Takeda Y, Miwatani T, Craig JP. Purification and some properties of a non-O1 *Vibrio cholerae* enterotoxin that is identical to cholera enterotoxin. Infect Immun. 1983;39:1128-1135. doi:[10.1128/iai.39.3.1128-1135.1983](https://doi.org/10.1128/iai.39.3.1128-1135.1983)