**INFORME FINAL**

SECRETARÍA EJECUTIVA DE LA COMISIÓN COLOMBIANA DEL OCÉANO

PLAN NACIONAL DE EXPEDICIONES CIENTÍFICAS MARINAS

# Datos generales del proyecto

|  |  |
| --- | --- |
| Título del proyecto | Presencia de Vibrio spp en la subregión Sanquianga-Gorgona y su relación con las condiciones hidrográficas |
| Expedición Científica | ECP2021-I Bocas de Sanquianga |
| Investigadores / Filiación | Jenny Parada, Christian Bermúdez-Rivas, Yadi Moreno, Fredy Castrillón, S2 Brainer Ángel  Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas del Pacífico |
| Institución responsable | Centro de Investigaciones Oceanográficas e hidrográficas del Pacífico |
| Instituciones aliadas |  |
| Correos electrónicos | cbermudezr@dimar.mil.co |
| Fecha de entrega | 21/04/2023 |

## Resumen (*300 palabras máximo*)

# Sinopsis técnica *(Máximo 1500 palabras)*

Las especies del género Vibrio son bacilos gramnegativos que tienen una amplia distribución en la naturaleza. En ambientes marinos y estuarinos, los *Vibrios* se aíslan comúnmente del sedimento, la columna de agua, el plancton y los mariscos. Los mariscos que a menudo albergan especies de Vibrio incluyen mariscos bivalvos (ostras, almejas y mejillones), cangrejos, camarones y langostinos. Los *Vibrios* son bacilos aerobios curvos y móviles que poseen un flagelo polar. La mayor parte de las especies del género *Vibrio* son halotolerantes y el cloruro de sodio (NaCl) a menudo estimula su multiplicación. El género está constituido por más de 115 especies. Todas las especies son principalmente acuáticas y su distribución depende de la temperatura, la concentración de sodio Na+, el contenido de nutrientes del agua y de las plantas y animales presentes. Se ha encontrado que sólo once especies causan infecciones en humanos, provocando diarrea o infecciones extra-intestinales, pero algunas como V. cholerae pueden causar ambas. La mayoría de las infecciones están relacionadas con la exposición al agua o a través del consumo de peces y mariscos. Cualquier cepa de V. cholerae puede causar diarrea, pero solo los serogrupos O1 y O139 han causado pandemias de cólera.

La especie *V. cholerae*, produce colonias convexas, lisas y redondas que son opacas y granulosas bajo luz transmitida. *V. cholerae* y la mayor parte de los demás *Vibrios*, se multiplican bien a una temperatura de 37°C en muchas clases de medios que contienen sales minerales y asparagina como fuentes de carbono y nitrógeno*. V. cholerae* se multiplica bien en agar de tiosulfato-citrato-bilis-sacarosa (TCBS, thiosulfate citrate bile sucrose), produce colonias amarillas que son fácilmente visibles sobre el fondo verde oscuro del agar. Los *Vibrios* son oxidasa positivos, lo que los distingue de las bacterias gram negativas entéricas. Es característico que los Vibrios se multipliquen a un pH muy alto (8,5 a 9,5) y que rápidamente sean destruidos por ácido. Por tanto, los cultivos que contienen hidratos de carbono fermentables se vuelven estériles con rapidez.

# Cumplimiento de objetivos

## Objetivo general

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Objetivo general | Evaluar la presencia del género bacteriano Vibrio spp (Vibrionales: Vibrionaceae), en la subregión Sanquianga-Gorgona y determinar cuáles son las variables hidrográficas que se relacionan con su presencia. | | | Porcentaje de avance | % 100 |
| Resultado obtenido | | Dificultades | Observaciones | | |
| Se logró evaluar | | El procesamiento de las muestras en un espacio con poca esterilidad como fue el laboratorio del buque, causó que alguno de los cultivos de las muestras se perdieran debido a la colonización por hongos. |  | | |

## Objetivos específicos

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Objetivo específico | Colectar muestras de agua para aplicar las pruebas confirmatorias para el diagnóstico de Vibrio spp. | | | Porcentaje de avance | 67% |
| Resultado obtenido | | Dificultades | Observaciones | | |
| Se colectaron las 36 muestras planeadas. | | Debido a las condiciones de esterilización del laboratorio del buque, algunas muestras se perdieron debido a la colonización por hongos. |  | | |
| Objetivo específico | Espacializar la presencia y ausencia de las especies de Vibrio en el área de las desembocaduras de los ríos Amarales, Guascama y Sanquianga en la subregión Sanquianga-Gorgona. | | | Porcentaje de avance | % |
| Resultado obtenido | | Dificultades | Observaciones | | |
| Se obtuvo el mapa de incidencia de *Vibrio* spp. Tanto para marea alta como para marea baja en el delta del río Sanquianga | |  |  | | |
| Objetivo específico | Relacionar las condiciones hidrografías entre la marea baja y la marea alta con la presencia de Vibrio spp. | | | Porcentaje de avance | % |
| Resultado obtenido | | Dificultades | Observaciones | | |
|  | |  |  | | |

# Introducción

La familia Vibrionaceae está compuesta por una amplia variedad de bacterias heterótrofas autóctonas que, a diferencia de otros géneros bacterianos, la mayoría de sus especies se encuentran en ambientes marinos y estuarinos debido a su necesidad de sodio para crecer (Oliver & Oliver, K, 2007). Dentro del género *Vibrio*, existen alrededor de 115 especies confirmadas de bacilos Gram-negativos, de las cuales aproximadamente una docena pueden ser potencialmente infecciosas para los seres humanos (Wong et al., 2019).

Las especies de *Vibrio* muestran diferencias en su distribución y abundancia a nivel global (Thompson et al., 2006). En general, las especies de *Vibrio* son más abundantes y diversas en ambientes tropicales y se puede encontrar en el medio todo el año. En contraste, en los ambientes boreales, como los del Ártico, las especies de *Vibrio* son menos abundantes y menos diversas debido a las bajas temperaturas, aunque durante el invierno se puede haber presencias de organismos viables, pero no cultivables. Además, los ambientes boreales suelen estar dominados por especies de *Vibrio* psicrófilas, que pueden crecer a bajas temperaturas, mientras que en los ambientes tropicales predominan las especies de *Vibrio* mesófilas, que pueden crecer a temperaturas más cálidas (Thompson et al., 2006).

Las especies de *Vibrio* están asociadas a la causa de enfermedades en peces, camarones y corales y también en humanos (Ceccarelli & Colwell, 2014; Rosenberg & Falkovitz, 2004; Thompson et al., 2006). La especie patogénica más común del género *Vibrio* es *V. cholerae*, causante del Cólera, esta enfermedad se puede producir por la ingesta de alimentos o agua contaminada con este patógeno (Thompson et al., 2006). Otras de las especies dentro de este género que puede causar enfermedades graves es la *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* causantes de la “Vibriosis”. Las infecciones por *Vibrio* en humanos se asocian a menudo con el consumo reciente de marisco, ya que los *Vibrios* se encuentran comúnmente en las aguas de estuario y en una variedad de mariscos. Algunos estudios han demostrado que las muestras de comida con productos marinos como los camarones, pescado crudo y los moluscos, pueden contener altas Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de *Vibrio* spp., con varias especies como *V. alginolyticus, V. parahaemolyticus, V. vulnificus, V. fluvialis, V. mimicus* y *V. cholera*. Vibrio *parahaemolyticus* está reconocido como la principal causa de gastroenteritis bacteriana asociada al consumo de pescado y marisco en muchas partes del mundo (Oliver & Oliver, K, 2007).

Para comprender la epidemiología de estas enfermedades y el riesgo de contaminación que pueden presentar estos patógenos para los asentamientos humanos, es esencial entender su ecología y cómo las condiciones ambientales están relacionadas con su presencia para poder prevenir la toma de alimentos de dichos lugares y emitir alertas tempranas (Córdoba Meza et al., 2021). Algunos estudios han identificado la temperatura, salinidad y concentración de nutrientes (nitritos, nitratos, fosfatos y silicatos) en el medio como los principales factores que influyen en la distribución y abundancia de estas especies (Wong et al., 2019), sin embargo, estas relaciones no son del todo consistentes con otras variables y dependen mucho de la resolución taxonómica (Takemura et al., 2014). Además, se ha observado que las especies de Vibrio establecen asociaciones estrechas con organismos planctónicos, especialmente crustáceos como los copépodos (Turner et al., 2009). En estas interacciones, las bacterias aprovechan la quitina exoesquelética de los organismos planctónicos como fuente de nutrientes para obtener carbono y nitrógeno, lo que les brinda una ventaja competitiva sobre las especies que no utilizan esta estrategia ecológica.

La mayoría de los estudios que evalúan las relaciones entre Vibrio spp y las condiciones ambientales se han centrado en análisis basados en regresiones lineales entre la magnitud de las variables y la abundancia. Sin embargo, son escasos los estudios que relacionan las variables ambientales con la presencia de este género (Takemura et al., 2014). Existen algunos trabajos que han evaluado estas relaciones con algoritmos no lineales (Baker-Austin et al., 2013; Escobar et al., 2015) e incluso se han desarrollado sistemas de alerta temprana a partir del uso de estos algoritmos (Brumfield et al., 2021).

Este estudio busca evaluar la incidencia del género *Vibrio* spp. y determinar, mediante modelos lineales generalizados y algoritmos de aprendizaje automático, las variables hidrográficas que pueden explicar su presencia.

# Metodología

## Metodología efectiva de muestreo

Entre los días 28 de abril y el 07 de mayo de 2021, a bordo del buque oceanográfico ARC “Providencia”, se visitaron 18 estaciones de muestreo en marea alta y marea baja (Figura 1) repartidas en tres transectos en las bocas del delta del río Sanquianga, Boca Amarales, Boca Guascama y Boca Sanquianga (6 estaciones c/u) (Figura 2). Durante cada una de las visitas se colectaron las muestras para sembrar los cultivos de *Vibrio* spp. a partir de un litro de agua que se tomó directamente en una botella esterilizada. Para las muestras de agua para determinar las variables fisicoquímicas se utilizó una botella Niskin de 10 litros (Figura 3A) atada a una cuerda con un mensajero para el cierre automático. En esta botella se tomaron 4 litros de agua para determinar la clorofila *a*, el pH, los nutrientes (nitritos, nitratos, fosfatos, silicatos) en el agua. La transparencia se midió con un disco Secchi al momento de la toma de las muestras y los perfiles de temperatura, salinidad, densidad, y oxígeno disuelto se midieron con una sonda CTDO.

Para la determinación de la riqueza y diversidad del fitoplancton, se filtraron alrededor de 20 litros de agua a través de una red de 50 µm y se tomó una muestra de 500 ml para ser analizadas en el laboratorio del Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas del Pacífico en Tumaco. Las muestras de zooplancton fueron colectadas con una red tipo bongo de 300 y 500 µm de ojo de malla con arrastres horizontales a 2 nudos durante 5 minutos; estas muestras se preservaron en formol.

Gráfico

Descripción generada automáticamente

Figura 1. Comportamiento de la onda mareal entre el 28 de abril y el 07 de mayo de 2021, señalando el momento de colecta de las muestras en cada una de las estaciones.



Figura 2. Área de estudio. Región Sanquianga-Gorgona.

## Metodología de procesamiento y análisis de resultados

### Análisis de muestras

### Muestras de microbiología

En este estudio, se utilizó una unidad de filtración previamente esterilizada con una bomba de vacío y expuesta a la luz UV durante 10 minutos para garantizar su esterilidad antes de su uso en el procedimiento de ensayo. Se colocó un filtro de membrana estéril en la unidad de filtración con la cuadrícula hacia arriba y se homogenizó vigorosamente la muestra antes de agregarla al embudo de filtración. Se aplicó vacío para hacer pasar la muestra a través del filtro de membrana de 0,45 µm, realizando diluciones si era necesario. Se observó que todo el líquido pasara a través del filtro y se enjuagó la superficie interior del embudo con agua peptonada estéril 0,1% o agua tamponada de dilución estéril. Después de la filtración, se retiró el filtro de membrana utilizando pinzas estériles y se incubó en Agua Peptona Alcalina al 1% a 35 ± 2 ºC durante 6 a 8 horas. Se repitió este procedimiento para todas las muestras restantes, realizando enjuagues con agua destilada estéril y exponiendo los embudos a luz UV por 10 minutos para evitar la contaminación cruzada por arrastre.

Después de haber transcurrido el tiempo de incubación, se tomó una asa de aro de inoculación (Figura 3B) y se sembró por agotamiento en la superficie del Agar TCBS. Las placas de Petri con el Agar TCBS se incubaron invertidas durante 18 a 24 horas a 35 ± 2 °C. Luego, se observaron las colonias presuntivas de *Vibrio* spp en el Agar TCBS, las cuales se caracterizan por tener un tamaño de 2-3 mm de diámetro, textura lisa, color amarillo y ser ligeramente aplanadas, con el centro opaco y la periferia translúcida.

Muestras de físicoquímicos.

Durante la expedición a bordo del buque, se llevaron a cabo las mediciones de Oxígeno Disuelto (OD), salinidad y pH. Para determinar la OD, se utilizó un dosificador Metrhom modelo Multidosimat y para medir la salinidad y el pH se utilizó un multiparametro Schott modelo Handylab multi 12. Además, se realizó un pretratamiento de las muestras destinadas a los ensayos de nutrientes y clorofila a, y se continuó con el tratamiento analítico de las mismas en el laboratorio del Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas del Pacífico.

Imagen que contiene interior, abrir, artículos, llenado

Descripción generada automáticamente

Figura 3. Toma y procesamiento de muestras. A. Toma de muestras de agua en las estaciones de muestreo. B. Proceso de inoculación con asa de aro en el medio de cultivo. C. Laboratorio de procesamiento de las muestras de microbiología. D. Siembra de las muestras de *Vibrio* spp.

# Resultados

Incidencia de *Vibrio* spp.

De las 36 muestras tomadas solo se logró cultivar exitosamente el 66% de estas muestras

# Discusión

# Conclusiones

# Productos generados *(De acuerdo con los objetivos específicos y el avance a la fecha, especifique la publicación de registros biológicos en el Sistema de Información Biológica de Colombia, registros de códigos de barra genéticos en Bold System y/o la publicación de notas, reportes y artículos científicos en revista indexada. Tenga presente que la expedición cuenta con recursos para financiar los derechos de publicación)*

# Literatura citada *(Normas de la Asociación Americana de Psicología)*

Baker-Austin, C., Trinanes, J. A., Taylor, N. G. H., Hartnell, R., Siitonen, A., & Martinez-Urtaza, J. (2013). Emerging Vibrio risk at high latitudes in response to ocean warming. *Nature Climate Change*, *3*(1), 73-77. https://doi.org/10.1038/nclimate1628

Brumfield, K. D., Usmani, M., Chen, K. M., Gangwar, M., Jutla, A. S., Huq, A., & Colwell, R. R. (2021). Environmental parameters associated with incidence and transmission of pathogenic *Vibrio spp* . *Environmental Microbiology*, *23*(12), 7314-7340. https://doi.org/10.1111/1462-2920.15716

Ceccarelli, D., & Colwell, R. R. (2014). Vibrio ecology, pathogenesis, and evolution. *Frontiers in Microbiology*, *5*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00256

Córdoba Meza, T., Espinosa Díaz, L. F., & Vivas Aguas, L. J. (2021). Ocurrencia Y Distribución De Vibrio cholerae Cultivable En La Ciénaga Grande De Santa Marta, Caribe Colombiano. *Acta Biológica Colombiana*, *27*(2). https://doi.org/10.15446/abc.v27n2.92057

Escobar, L. E., Ryan, S. J., Stewart-Ibarra, A. M., Finkelstein, J. L., King, C. A., Qiao, H., & Polhemus, M. E. (2015). A global map of suitability for coastal Vibrio cholerae under current and future climate conditions. *Acta Tropica*, *149*, 202-211. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.05.028

Oliver, J., & Oliver, K. (2007). Vibrio Species. En *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers* (3rd ed). ASM Press.

Rosenberg, E., & Falkovitz, L. (2004). The Vibrio shiloi/Oculina patagonica model system of coral bleaching. *Annu. Rev. Microbiol.*, *58*, 143-159.

Takemura, A. F., Chien, D. M., & Polz, M. F. (2014). Associations and dynamics of Vibrionaceae in the environment, from the genus to the population level. *Frontiers in Microbiology*, *5*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00038

Thompson, F. L., Austin, B., Swings, J. G., & American Society for Microbiology (Eds.). (2006). *The biology of vibrios*. ASM Press.

Turner, J. W., Good, B., Cole, D., & Lipp, E. K. (2009). Plankton composition and environmental factors contribute to Vibrio seasonality. *The ISME Journal*, *3*(9), 1082-1092. https://doi.org/10.1038/ismej.2009.50

Wong, Y. Y., Lee, C. W., Bong, C. W., Lim, J. H., Narayanan, K., & Sim, E. U. H. (2019). Environmental control of Vibrio spp. Abundance and community structure in tropical waters. *FEMS Microbiology Ecology*, *95*(11), fiz176. https://doi.org/10.1093/femsec/fiz176

# Comentarios y recomendaciones *(De considerarlo, realice los comentarios y/o recomendaciones para mejorar el desarrollo de las expediciones científicas, teniendo en cuenta el componente científico de interés para su grupo de investigación)*