



## *Vibrio cholerae* no-01. Un patógeno potencial en Cuba

Anabel Fernández Abreu <sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0002-5395-5041>  
Laura Bravo Fariñas <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0003-2183-3119>  
Adalberto Águila Sánchez <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0003-0259-4394>  
Yanaika Cruz Infante <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-9825-2737>  
Jenny L. Hernández Martínez <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0003-1018-6757>  
Rosabel Falcón Márquez <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0003-1273-6835>  
María Eugenia Toledo Romaní <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-8600-9062>  
María de los Ángeles León Venero <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-2962-4090>  
Waldemar Baldoquin Rodríguez <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-9231-7109>  
Alina Martínez Rodríguez <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-9946-9399>  
Dayana Rodríguez Velázquez <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-6473-5650>  
Ángel M. Germán Almeida <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-5948-3834>

<sup>1</sup> Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí. La Habana, Cuba

\*Autor para la correspondencia: [anabel@ipk.sld.cu](mailto:anabel@ipk.sld.cu)

### RESUMEN

#### Revisores <sup>a</sup>

#### Editor

Lisset González Navarro  
Academia de Ciencias de Cuba.  
La Habana, Cuba

#### Traductor

Darwin A. Arduengo García  
Academia de Ciencias de Cuba.  
La Habana, Cuba

a N. del E: En este apartado figuran los nombres de los árbitros que accedieron a revelar su identidad, como expresión de apertura progresiva del proceso de revisión por pares. No aparecen aquellos que optaron por el anonimato.

**Introducción:** *Vibrio cholerae* no-01 constituye un patógeno potencial causante de infecciones intestinales y extraintestinal. Estos constituyen reservorios de genes de virulencia y de resistencia a los antimicrobianos, permitiendo que aislados de *Vibrio cholerae* no-01 se conviertan en coléricos y epidémicos. En Cuba, desde 1980 el Laboratorio Nacional de Referencia-EDA del Instituto Pedro Kourí realiza la vigilancia de este agente. Entre 2012-2016 se notifican casos sospechosos de cólera, y circulan serogrupos epidémicos y no epidémicos. Este estudio se propone investigar los aislados que circularon entre 2012-2019, en cuanto a: la distribución espacio-temporal, las variaciones en el potencial patogénico y la resistencia a los antimicrobianos. **Métodos:** Se realizó un estudio analítico de corte transversal que incluyó 80 aislados. Se realizó la confirmación en género, especie y serotipo, la distribución tiempo-espacial, la detección de factores de virulencia y la susceptibilidad frente a 9 antimicrobianos. Se determinó la relación entre el fenotipo de virulencia y la multirresistencia. **Resultados:** Se demostró un patrón de heterogeneidad espacial, con predominio de la detección en la región oriental, y un incremento de los factores de virulencia enzimáticos y la formación de biopelícula en el periodo. Los mayores valores de resistencia se evidenciaron para el trimetoprim/sulfametoxazol y para la ampicilina, mientras que para la doxiciclina, azitromicina y ciprofloxacina se demostraron porcentajes por debajo del 5 %. Se constató la circulación de aislados de multirresistentes con patrones que incluyen los antimicrobianos de elección en el tratamiento de las diarreas por *Vibrio cholerae*, y no se evidenció asociación entre la presencia de los factores de virulencia y la multirresistencia. Como conclusión el análisis del comportamiento de las enfermedades diarreicas agudas en Cuba a partir de la distribución

espacio-temporal de *V. cholerae* no-O1 patogénico y multirresistente aporta elementos fundamentales para la construcción de mapas de riesgo y permite la predicción oportuna de futuros escenarios de brotes.

**Palabras clave:** *Vibrio cholerae* no-O1; distribución temporo-espacial; factores de virulencia; resistencia a los antimicrobianos

## ***Vibrio cholerae* non-O1. A potential pathogen in Cuba**

### **ABSTRACT**

**Introduction:** *Vibrio cholerae* non-O1 constitutes a potential pathogen that causes intestinal and extraintestinal infections. These constitute reservoirs of virulence and antimicrobial resistance genes, allowing isolates of *Vibrio cholerae* non-O1 to become choleric and epidemic. In Cuba, since 1980 the National Reference Laboratory- EDA of the "Pedro Kourí" Institute has been monitoring this agent. Between 2012-2016, suspected cases of cholera are reported, and epidemic and non-epidemic serogroups are circulating. This study aims to investigate the isolates that circulated between 2012-2019, in terms of: spatio-temporal distribution, variations in pathogenic potential and antimicrobial resistance. **Methods:** It was carried out an analytical cross-sectional study that included 80 isolates. They were carried out confirmation of genus, species and serotype, temporal-spatial distribution, detection of virulence factors and susceptibility to nine antimicrobials. It was determined the relationship between virulence phenotype and multi-resistance. **Results:** It was demonstrated a spatial heterogeneity pattern, with a predominance of detection in the eastern region, and an increase in enzymatic virulence factors and biofilm formation in the period. They were observed the highest resistance values for trimethoprim/sulfamethoxazole and for ampicillin, while they were demonstrated percentages below 5% for doxycycline, azithromycin and ciprofloxacin. It was verified the circulation of multiresistant isolates with patterns that include the antimicrobials of choice in the treatment of *V. cholerae* diarrhea, and it was found no association between the presence of virulence factors and multiresistance. Conclusion, the analysis of the behavior of ADD in Cuba based on the spatio-temporal distribution of *Vibrio cholerae* non-O1 pathogenic and multi-resistant provides fundamental elements for the construction of risk maps and allows the timely prediction of future outbreak scenarios.

**Keywords:** *Vibrio cholerae* non-O1; temporo-spatial distribution; virulence factors; antimicrobial resistance

## **INTRODUCCIÓN**

Las enfermedades diarreicas agudas (EDA) son una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el mundo, sobre todo en el grupo de niños menores de 5 años. <sup>(1)</sup> Dentro de sus agentes causales, se encuentran diferentes bacterias y entre ellas sobresale *Vibrio cholerae*, como uno de los de mayor importancia médica. <sup>(2,3)</sup>

Basado en el antígeno O del lipopolisacárido capsular, *V. cholerae* se clasifica en más de 200 serogrupos idénticos desde el punto de vista bioquímico, dentro de los que se encuentran el O1 y O139, serogrupos epidémicos que causan el cólera, <sup>(4)</sup> mientras que, los no-O1, se consideran no epi-

démicos y causan brotes o casos esporádicos de diarreas, con síntomas y signos clínicos que difieren del cólera. <sup>(3)</sup> La circulación simultánea de los serogrupos epidémicos y no epidémicos constituye una emergencia para la salud, ya que por el intercambio genético demostrado entre aislados de *V. cholerae* de genes de virulencia y de resistencia a los antimicrobianos pudieran aparecer cepas más virulentas y con potencialidad para convertirse en agente etiológico de cólera y generar nuevas epidemias. <sup>(5)</sup>

A pesar de los estudios escasos sobre los factores de virulencia en aislados de *V. cholerae* en América Latina y el Caribe, <sup>(6)</sup> en la literatura consultada describen la presencia

de productos extracelulares tales como una enterotoxina termoestable NAG-ST, la TCP, la producción de las siguientes enzimas: gelatinasa, elastasa, lecitinasa y hemolisinas y la capacidad de formación de biopelícula. <sup>(7,8)</sup>

Después de la introducción de los agentes antimicrobianos, *V. cholerae* permanece con una relativa sensibilidad antibacteriana hasta finales de 1970. La problemática creada por el uso inadecuado de los antimicrobianos asociados a los brotes de cólera, adquiere mayor importancia a la luz del incremento de la multirresistencia en las diferentes áreas geográficas. <sup>(9,10)</sup>

En Cuba, desde 1980 el Laboratorio Nacional de Referencia-EDA del Instituto Pedro Kourí (LNR/EDA) realiza la vigilancia del *V. cholerae* donde se evidencia desde 1985, la circulación de *V. cholerae* no-O1 de origen clínico y ambiental. A partir de 1997 se comienzan a realizar los estudios de susceptibilidad a los antimicrobianos, donde se demuestra que no circulan aislados multirresistentes de esta especie. En 2012 se detecta por el LNR/EDA el agente etiológico del cólera, produciendo un alza de casos entre los años 2013-14 y a partir del 2017 no se notifican casos sospechosos de la enfermedad en el país. En este estudio se propone estudiar los aislados de *V. cholerae* no-O1 causantes de diarrea que circularon en las etapas epidémica y postepidémica (2012-2019), en cuanto a la distribución en las regiones geográficas del país, las variaciones en el potencial patogénico y la resistencia a los antimicrobianos en estos aislados.

## MÉTODOS

Se realizó un estudio analítico de corte trasversal que abarcó 8 años, desde enero de 2012 hasta diciembre de 2019.

Universo y muestra: Se estudiaron 80 aislados de *V. cholerae* pertenecientes a la colección de cultivos del LNR/EDA/IPK, remitidos desde los 15 Centros Provinciales de Higiene, Epidemiología y Microbiología (CPHEM) del país y el Centro Municipal de Higiene, Epidemiología y Microbiología (CMHEM) de la Isla de la Juventud.

Desde el punto de vista geográfico, los centros emisores de los aislados se agruparon en regiones, según la división político administrativa vigente en el país. A todos se les realizó la confirmación de género, especie y el serotipo utilizando la metodología convencional. <sup>(11)</sup> Además, se particularizó en describir los relacionados con brotes, considerando como brote aquellos donde la unidad emisora de los aislados de *V. cholerae* refirió que pertenecieron a un episodio en el cual hubo 2 o más enfermos relacionados entre sí; se tuvo en cuenta el momento de inicio de los síntomas, el lugar donde ocurrieron o las características de las personas enfermas. <sup>(12)</sup>

Identificación de los factores de virulencia: Para la identificación de las enzimas extracelulares se sembró por ago-

tamiento una asada del microorganismo en los medios recomendados, a partir de un cultivo puro de 18 h a 24 h de incubación en el medio de AHK. Para la determinación de las enzimas DNasa, gelatinasa, lecitinasa y elastasa se utilizó los medios recomendados en la metodología según Karagozova A y Salnikova O, 2000. <sup>(13)</sup> Y para la actividad hemolítica se siguió el procedimiento recomendado por Robinson J, 1986. <sup>(14)</sup>

### Determinación de la biopelícula en los aislados de *V. cholerae*-O1

A partir de un cultivo puro en AHK se realizó la capacidad de formación de biopelícula, según lo descrito por O'Toole GA y col., 2011. La aparición de color azul indicó la formación de la biopelícula. Se clasificaron en 4 categorías desde 1 cruz (25 %) hasta 4 cruces (100 %) de acuerdo al área de teñido del pocillo. Además, se estableció una correlación entre el sistema de cruces y la clasificación de formación de biopelícula en débil, moderado, fuerte y muy fuerte. <sup>(15)</sup>

Determinación de la susceptibilidad a los antimicrobianos: Se determinó la susceptibilidad de cada uno de los aislados, frente a 9 antimicrobianos (ampicilina, tetraciclina, trimetoprim/sulfametoxazol, cloranfenicol y ciprofloxacina, gentamicina, kanamicina, doxiciclina y azitromicina). Se utilizó el método de difusión en agar Kirby-Bauer para la ampicilina, la tetraciclina, el trimetoprim/sulfametoxazol, el cloranfenicol, la ciprofloxacina, la gentamicina y la kanamicina. Para la doxiciclina y la azitromicina se utilizó el método de dilución en agar, determinando la CMI de cada antimicrobiano mediante el sistema comercial prueba de Épsilon (etest, por sus siglas en inglés). Se utilizaron los criterios de resistencia según los puntos de corte establecidos por CLSI de 2010 y 2018. <sup>(16,17)</sup>

Criterio de multirresistencia: se consideraron como multirresistentes aquellos aislados de *V. cholerae* que mostraron resistencia a 3 o más familias de antimicrobianos diferentes. <sup>(17)</sup>

Análisis estadístico: Los datos se archivaron y procesaron en una base de datos con el uso del programa excel de microsoft office. Se utilizaron medidas estadísticas descriptivas como la frecuencia y el porcentaje para el análisis y la presentación de los resultados. Para el análisis de las variables cualitativas se emplearon las pruebas de comparación de proporciones y chi-cuadrado (X<sup>2</sup>) en muestras independientes.

Para evaluar la asociación de los factores de virulencia enzimáticos, la formación de la biopelícula y el serotipo con la presencia de la multirresistencia, se realizó un análisis bivariado. Se empleó la prueba de chi cuadrado para comparar los grupos multirresistentes (MR) y no MR o la prueba exacta de Fisher, si alguna de las celdas (en las tablas tetracóricas cons-

truidas) tenía algún valor esperado menor de 5. Se calcularon los valores de odds ratio (OR) con sus intervalos de confianza al 95 % (IC 95 %) para la evaluación de riesgo. Posteriormente, se realizó una regresión logística binaria para minimizar los sesgos y ver la influencia de conjunto de todas las variables estudiadas en los aislados MR.

## RESULTADOS

### Distribución temporo-espacial de *V. cholerae* en Cuba

De los 80 aislados estudiados, el 17,5 % procedían de brotes. La figura 1 muestra la distribución en el período de estudio, evidenciándose la identificación de este agente en el período epidémico y postepidémico.

La distribución porcentual de los serogrupos según regiones geográficas demostró que, aunque se identificó en las 3 regiones del país, fue la región oriental la que aportó el mayor número de aislados (figura 2).

### Presencia de factores de virulencia

Se evidenció la presencia de 2 o más factores de virulencia enzimáticos (lecitinasa, Dnasa, gelatinasa, elastasa, beta-hemolisina) en los aislados estudiados. Los mayores porcentajes se obtuvieron para las enzimas lecitinasa (95 %), gelatinasa (93,7 %), seguido de hemolisina (80 %), DNasa (76,2 %) y elastasa (46,2 %). Se demostró un incremento del porcentaje de positividad para todos los factores de virulencia enzimáticos en relación a estudios anteriores.

En relación a la capacidad de formación de biopelícula de los aislados estudiados, se identificó que 54 (67,5 %) resultaron positivos, lo que demuestra su habilidad para sobrevivir durante el ciclo infeccioso y en el ambiente.

La distribución de los aislados según la intensidad del color de la biopelícula formada en cada uno de los períodos estudiados se evidenció que, entre los aislados positivos predominaron los clasificados con 2 cruces con porcentajes de positividad de 46,3 %, seguidos por los catalogados con una cruz (38,9 %). En los aislados clasificados con 3 cruces y 4 cruces los valores de positividad fueron de 9,2 % y 5,5 %, respectivamente.

### Resistencia a los antimicrobianos y relación con el fenotipo de virulencia

Se demostró los mayores porcentajes de resistencia frente a la ampicilina (91,2 %) y al trimetoprim/sulfametoxazol (68,7 %). Para los antimicrobianos de primera y segunda línea empleados para el tratamiento de las diarreas por *V. cholerae* (la doxiciclina, la azitromicina y la ciprofloxacina), los valores fueron inferiores al 5 % (figura 3).

En el período se evidenció que 6 (7,5 %) de los aislados resultaron multirresistentes, con 5 patrones de multirresistencia: AMP/SXT/C (33,3 %), AMP/C/TE (16,6 %), AMP/SXT/K (16,6 %), AMP/SXT/CIP (16,6 %) y en 3 de ellos, están incluidos los antimicrobianos utilizados en el tratamiento de elección.

La figura 4 muestra la distribución porcentual de los aislados multirresistentes en el período. Nótese que circularon en los años 2012, 2015 y 2016 (período epidémico) y 2018, 2019 (período postepidémico).

La figura 5 muestra la distribución según las regiones geográficas de los aislados multirresistentes en el período 2012-2019. Se evidenció que la circulación de estos aislados comenzó por la región oriental y luego se extendió a la región central y occidental de Cuba.

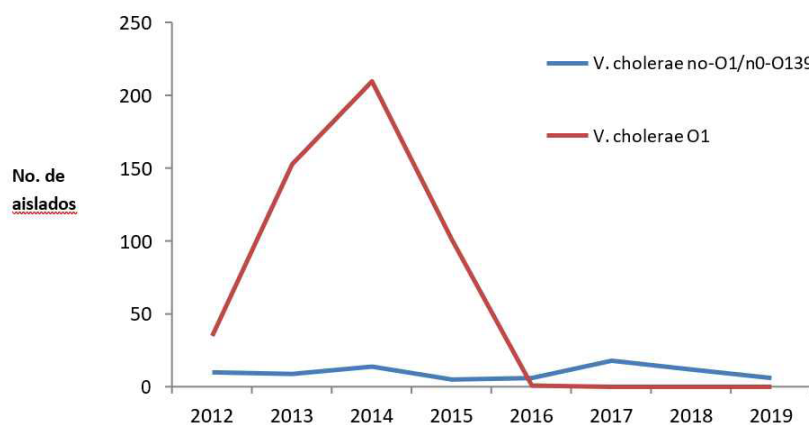
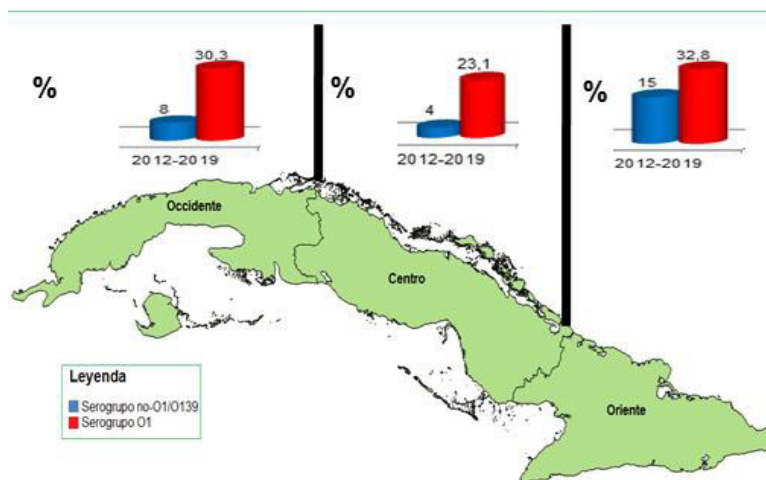


Fig. 1. Distribución en el tiempo de los serogrupos *V. cholerae* no-O1 responsables de enfermedad diarreica en Cuba (2012-2019).



**Fig. 2.** Distribución porcentual de los serogrupos *V. cholerae* no-01 responsables de enfermedad diarreica en Cuba (2012-2019), según regiones geográficas.

Según el análisis bivariado y la regresión logística binaria se demostró que no hubo asociación entre la presencia de los factores de virulencia y la multirresistencia en los aislados incluidos en el estudio.

## DISCUSIÓN

Las especies de *Vibrio* muestran una amplia distribución en ambientes acuáticos de todo el mundo, <sup>(18)</sup> y como consecuencia del cambio climático, puede ser responsable de los brotes de infección por *Vibrio*. <sup>(19)</sup>

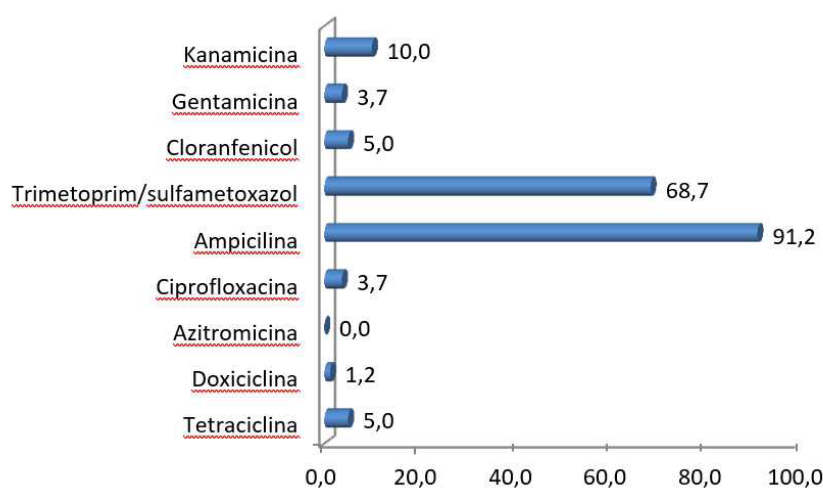
La circulación de aislados de *V. cholerae* no-01 procedentes de pacientes con EDA en las 3 regiones del país también se evidenció desde la década de los '80 hasta 1998 en Cuba, donde se demuestra una mayor circulación en la región oriental, sugiriendo la posible existencia de un nicho ecológico que

favorece la persistencia de las diarreas causadas por este agente.

La coexistencia de *V. cholerae* 01 y *V. cholerae* no-01 se demostró en investigaciones realizadas en Ghana durante los años 2015-2016, en muestras de heces obtenidas de pacientes con EDA y del ambiente. <sup>(20)</sup>

Como está descrito en la literatura internacional, durante los brotes de cólera circulan junto con *V. cholerae* 01, los serogrupos no epidémicos. Así lo notifican en Tailandia, Iraq y Japón. <sup>(21)</sup> Esto representa una emergencia de salud para el mundo debido a la transferencia horizontal de genes que aportan virulencia y resistencia antimicrobiana entre los serogrupos de la misma especie, lo cual favorece la aparición de cepas más virulentas. <sup>(22)</sup>

Los aislados de *V. cholerae* no-01, a pesar de no poseer los genes que codifican para la toxina colérica, son capaces



**Fig. 3.** Resistencia de *V. cholerae* no-01 a los antimicrobianos. Cuba. 2012-2019.

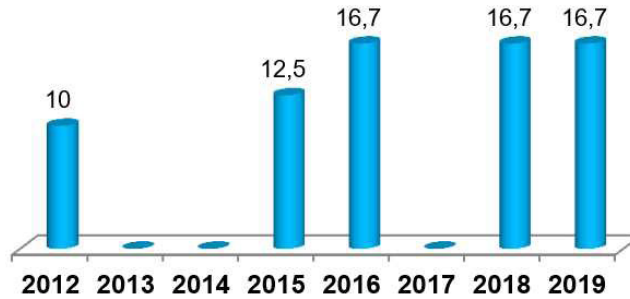


Fig. 4. Distribución porcentual de los aislados de *V. cholerae* O1 multirresistentes en el período. Cuba. 2012-2019.

de causar enfermedad en el humano mediante la colonización del intestino delgado y la producción de enzimas extracelulares involucradas en su patogenicidad. (23)

En Cuba, varios estudios evidencian la presencia de enzimas extracelulares en los aislados de *V. cholerae* no-O1. Pérez. C y col. en 2013 demuestra que la mayoría de los aislados no toxigénicos de esta especie producen la enzima gelatinasa. (24) De igual forma, Cabrera y col. en el año 2006, en 65 aislados procedentes de pacientes con EDA, informan al menos 2 factores de virulencia presentes en todos los aislados, donde el 100 % de los mismos son positivos a las enzimas hemolisina y gelatinasa; seguido de DNasa (73,8 %), lecitinasa (80 %) y elastasa (86,1 %). (25)

Saleh y col., encuentran en Iraq durante el período 2007-2009, que el 100 % de los aislados de *V. cholerae* no-O1 obtenidos de pacientes con EDA producían lecitinasa. (26) Un factor clave para la supervivencia ambiental y transmisión de *V. cholerae* es su capacidad para formar biopelícula. Diferentes investigaciones sugieren que el desarrollo de la biopelícula por

*V. cholerae* puede ser importante durante el desarrollo de la infección en los humanos. (27-29)

Estudios realizados en Alemania, Austria y Eslovaquia ponen de manifiesto que la presencia de biopelícula es más común en los serogrupos no epidémicos. (23,27) La intensidad de la biopelícula está relacionada con la patogenicidad en este microorganismo, ya que este hecho puede condicionar el pronóstico y el tratamiento de la infección causada por *V. cholerae*. (23)

En el estudio realizado en Alemania y Austria, en aislados de *V. cholerae* procedentes de pacientes con EDA, evidencian la formación de biopelícula con predominio en la intensidad de 2 cruces, o sea moderada (33,3 %) (30) Sin embargo, en Eslovaquia, se evidencia en *V. cholerae* que predominan los aislados clasificados como muy fuerte (4 cruces). (23)

El no cumplimiento de los regímenes de tratamiento antimicrobiano prescritos conduce con frecuencia a la aparición de resistencia antimicrobiana. (31) Está demostrado que los aislados de *V. cholerae* adquieren resistencia a casi todos los

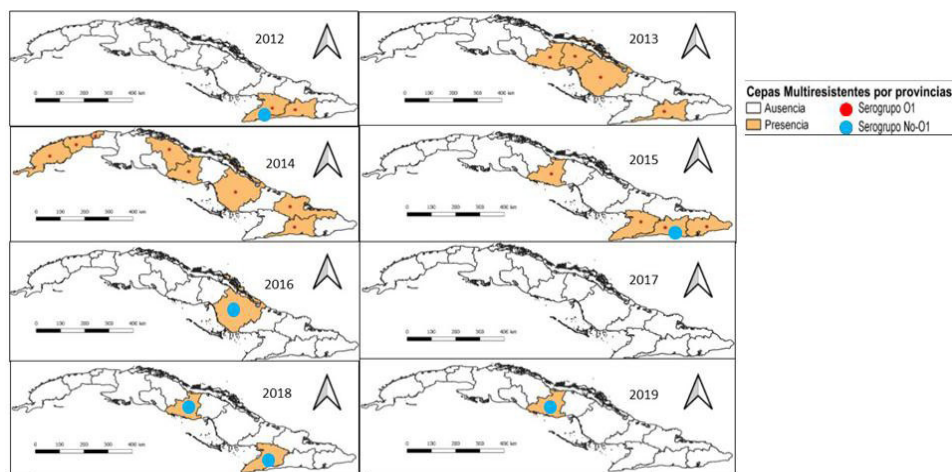


Fig. 5. Distribución de los aislados de *V. cholerae* O1 multirresistentes, según regiones geográficas. Cuba. 2012-2019

antimicrobianos después de su uso para el tratamiento del cólera. La OMS recomienda la doxiciclina, la azitromicina y la ciprofloxacina como medicamentos de elección para el tratamiento de los casos de cólera. <sup>(32)</sup>

Según la literatura especializada, para determinar la susceptibilidad a los antimicrobianos no se tienen en cuenta los diferentes serogrupos de *V. cholerae*. Los puntos de corte según la CLSI se determinan para la especie, teniendo en cuenta que la resistencia intrínseca a los antibióticos está asociada a la adquisición de determinantes genéticos de resistencia y mutaciones dentro de la misma especie y entre los enteropatógenos en general. <sup>(16)</sup>

En Cuba, Majano en un estudio en aislados de *V. cholerae* no-O1 evidencia un 5,5 % de resistencia a la tetraciclina. <sup>(33)</sup> De igual forma, investigaciones realizadas en Hangzhou, provincia de China, detectan en aislados de *V. cholerae* O1 toxigénicos y no toxigénicos causantes de EDA entre los años 2001-2012, valores de resistencia de 1 % frente a la tetraciclina. <sup>(21)</sup> La tetraciclina es un fármaco de poco uso por sus efectos adversos gastrointestinales y el depósito de este fármaco en los dientes y huesos, puede ser la causa del porcentaje de aislados resistentes frente a este antimicrobiano. <sup>(20)</sup> El porcentaje de aislados resistentes a la doxiciclina en el período estudiado, fue similar al obtenido en 2019 en Ghana, quienes al investigar aislados de *V. cholerae* de origen clínico y ambiental, no evidencian resistencia a este antimicrobiano. <sup>(20)</sup>

En relación con la susceptibilidad antimicrobiana frente a la azitromicina, en la presente investigación no se identificó resistencia entre 2012-2019, lo que no coinciden con los obtenidos por Abana D y col., en 2019 en Ghana, quienes en aislados de origen clínico detectan valores de resistencia de un 42 % para este antimicrobiano. <sup>(20)</sup>

La política de antibióticos aplicados en Cuba para el tratamiento de las EDA causadas por *V. cholerae*, indica el uso de la ciprofloxacina en aquellos pacientes adultos con la vía oral comprometida o que presenten antecedentes de alergia al medicamento de elección. Estudios previos realizados en 2008, no identifican aislados resistentes frente a este antimicrobiano en Cuba. <sup>(25)</sup> De igual forma, investigaciones realizadas en Ghana en el año 2018, no detectan aislados de *V. cholerae* resistente a la ciprofloxacina. <sup>(34)</sup>

Entre los antimicrobianos estudiados en esta investigación, el mayor porcentaje de resistencia se observó frente a la ampicilina y al trimetoprim/sulfametoxazol. En Cuba, resultados similares se evidencian, en aislados de *V. cholerae*, al notificar el 55,5 % y 57 % de resistencia para la ampicilina, y 44,9 % y 41 % para el trimetoprim/sulfametoxazol, respectivamente. <sup>(25,33)</sup>

En el caso de la resistencia detectada frente al cloranfenicol en el presente estudio, puede explicarse por su poco uso

en Cuba, asociado a serios efectos adversos hematológicos, por lo que se reserva para el tratamiento de infecciones severas siempre y cuando no existan otras alternativas de tratamiento eficaces y menos tóxicas. <sup>(35)</sup>

Frente a los aminoglucósidos el porcentaje de resistencia obtenido fue similar a los obtenidos por Válariková J y col., 2019, quienes no obtienen aislados resistentes a la gentamicina. <sup>(23)</sup>

La adquisición de genes de resistencia en aislados de *V. cholerae* constituye un importante fenómeno desde el punto de vista clínico, ya que se incrementan los enfermos con fallo terapéutico y, por ende, la estancia hospitalaria. <sup>(34)</sup>

Los patrones de multiresistencia en *V. cholerae* no-O1 están menos estudiados que los serogrupos epidémicos. <sup>(36)</sup> Investigaciones realizadas en países del continente asiático, evidencian que la resistencia de estos serogrupos generalmente se asocia a los brotes de cólera, demostrándose resistencia a varios antimicrobianos y a la circulación de aislados MR. <sup>(23)</sup>

Este trabajo es el primero en notificar la circulación de aislados MR de este patógeno en Cuba. El porcentaje de los aislados MR y los patrones de multiresistencia detectados, constituyen un llamado de alerta y ratifica la necesidad de mantener la vigilancia de la susceptibilidad de los aislados de *V. cholerae* circulantes en el país.

La detección de los aislados MR según las regiones geográficas se relacionó con la aparición de los brotes de cólera en el 2012, los que comenzaron por la región oriental. Se conoce que, dentro de las medidas aplicadas en el control del cólera está la aplicación de la terapia con antimicrobianos en los pacientes y contactos, lo que ejerce una presión selectiva sobre los aislados circulantes durante el brote, favoreciendo así la aparición de la multiresistencia.

Estudios recientes evidencian que, en los países no endémicos de cólera, la presencia de *V. cholerae* no-O1 juega un papel en la diseminación de genes de resistencia, por lo que debe mantenerse una estrecha vigilancia sobre este aspecto en estos serogrupos. <sup>(37)</sup>

Los resultados de la presente investigación acerca de la relación entre los factores de virulencia y la multiresistencia en los aislados estudiados pueden relacionarse con la ausencia de mecanismos de resistencia, como las bombas de eflujo, la adquisición de plásmidos y de elementos integradores y conjugativos, involucrados en ambos procesos. <sup>(38)</sup>

Las bombas de expulsión y los determinantes de virulencia se estudian en especies de importancia clínica entre las que se encuentra *V. cholerae*. Bina y col., en los Estados Unidos refieren que los aislados que presentan bombas de expulsión RND (resistencia-nodulación-división celular) muestran una disminución en la producción de la TC y Tcp en comparación con aislados salvajes. <sup>(39)</sup>

Hay algunos ejemplos claros en los que la coselección de resistencia y virulencia se produce a través de ICE. En *V. cholerae*, la enzima bis-(3', 5')-GMP dimérico cíclico aumenta la formación de biopelículas y disminuye la virulencia y la motilidad, por lo que se considera un factor importante para la persistencia en el medio ambiente.<sup>(40)</sup> Se documenta la plasticidad *in vitro* y la capacidad del ICE para transferir genes de virulencia a otras especies como *E. coli*.<sup>(41)</sup>

La capacidad de formación de la biopelícula evidencia en aislados de *V. cholerae* que, las células dentro de la biopelícula son más resistentes a la acción de los antimicrobianos, y no se refiere a los mecanismos genéticos descritos para este patógeno, sino implica que los antimicrobianos no pueden penetrar y ejercer su acción en las células.<sup>(8)</sup> Los mecanismos bacterianos implicados en la patogenicidad y virulencia experimentan un largo proceso evolutivo dependiente de la relación hospedero-patógeno. Muchos de estos cambios se deben a la presión de selección provocada por los antimicrobianos, lo que obliga a los microorganismos a su adaptación de manera continua a las condiciones cambiantes, con la adquisición o el desarrollo de nuevos mecanismos de patogenicidad y resistencia.<sup>(41,42)</sup>

De manera evidente, estos resultados ratifican la problemática en Cuba de las infecciones gastrointestinales por *V. cholerae* no-O1 y sugiere utilizar los resultados de la investigación para el diseño de las estrategias focalizadas, atendiendo al patrón de distribución temporo-espacial. Este enfoque es además significativo y de vital importancia en el manejo de las diarreas, pues brinda al Sistema Nacional de Salud y al Programa de Enfermedades Transmitidas por Alimentos, una información útil y pertinente referente a la programación de y hacia dónde deben dirigirse los recursos humanos y materiales necesarios para el control de las EDA.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Herrera Benavente IF, Comas García A, Mascareñas de los Santos AH. Impacto de las enfermedades diarreicas agudas en América Latina. Justificación del establecimiento de un Comité de Enfermedades Diarreicas en SLIPE. *Rev Latin Infect Ped*. 2018;31(1):8-16.
- Hsueh BY, Waters CM. Combating Cholera F1000 Research, 8. (F1000 Faculty Rev) 2019:589. Disponible en: <https://orcid.org/10.12688/f1000research.18093.1>
- Parte, A.C. LPSNlist of prokaryotic names with standing in nomenclature (bacterio.net), 20 years on. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2018;68:1825-9. Disponible en: <https://orcid.org/10.1099/ijsem.0.002786>
- Shin OS, Tam VC, Suzuki M, Ritchie JM, Bronson RT, Waldor MK, et al. Type III secretion is essential for the rapidly fatal diarrheal disease caused by non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae*. *mBio*. 2011;2:e00106-11. Disponible en: <https://orcid.org/10.1128/mbio>
- Guillaume Y, Raymond M, Jerome GJ, Ternier R, Ivers LC. It was a ravage: lived experiences of epidemic cholera in rural Haiti. *BMJ Global Health* 2019; 4:e001834. Disponible en: <https://orcid.org/10.1136/bmjgh-2019-001834>
- Arteaga M, Velasco J, Rodríguez Sh, Vidal M, Arellano C, Silva F, et al. Genomic characterization of the non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae* strain that caused a gastroenteritis outbreak in Santiago, Chile. *Microb Gen*. 2020;12:3. Disponible en: <https://orcid.org/10.1099/mgen.0.000340>
- Briceño I, Puebla C, Guerra F, Jensen D, Núñez H, Ulloa M, et al. Sepsis fatal causada por *Vibrio cholerae* no-O1, no-O139 hemolítico en Chile. Caso clínico. *Rev Méd Chile*. 2009;137(9):1193-6.
- Gupta P, Mankere B, ChekkooraKeloth S, Tuteja U, Pandey P, ThavaChelvam, K. Increased antibiotic resistance exhibited by the biofilm of *Vibrio cholerae* O139. *J Antimicrob Chemother*. 2018;73:1841-47. Disponible en: <https://orcid.org/10.1093/jac/dky127>
- Rashed SM, Hasan NA, Alam M, Sadique A, Sultana M, Hoq MM, et al. *Vibrio cholerae* O1 with reduced susceptibility to ciprofloxacin and azithromycin isolated from a rural coastal area of Bangladesh. *Front Microbiol*. 2017;8:252. Disponible en: <https://orcid.org/10.3389/fmicb.2017.00252>
- Mohammed Y, Aboderin AO, Okeke IN, Olayinka AT Antimicrobial resistance of *Vibrio cholerae* from sub-Saharan Africa: a systematic review. *Afr J Lab Med*. 2018;7:778. Disponible en: <https://orcid.org/10.4102/ajlm.v7i2.778>
- Koneman E, Win W, Allen S, Janda W, Procop G, Schreckenber P. *Koneman Diagnóstico microbiológico. Texto y Atlas en color. Capítulo 3: El diagnóstico de laboratorio por métodos inmunológicos 109; Capítulo 4: Microbiología Molecular 129; Capítulo 8: Bacilos gramnegativos curvos y fermentadores oxidasa positivos: campilobacterias y vibriones 372, 6ta Edición. Editorial médica Panamericana. 2008.*
- Peláez O, Más P. Brote, epidemias, eventos y otros términos epidemiológicos de uso cotidiano. *Rev Cubana Salud Pública*. 2020;46(2):23-35.
- Karagozova A, Salnikova O. The expression of the pathogenic properties of the *Vibrio cholerae* O139 serogroup in vitro. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol*. 2000;3:7-10.
- Robinson, J. Comparison of direct plating with the use of enrichment culture of isolating of *Aeromonas* spp from faeces. *J Med Microbiol*. 1986;22,315-7.
- O'Toole GA. Microtiter Dish Biofilm Formation Assay. *JoVE*. 2011;47.2437:10-11. Disponible en: <https://orcid.org/10.3791/2437>
- Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). *Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; Approved Guideline Second Edition; M45-A2 [ISBN 1-56238-732- 4]; 2010; 30(18):36-7.*
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing -28th edition. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA. 2018.*
- Baker Austin C, Trinanes J, González Escalona N, Martínez Urtaza J. Non cholera vibrios: the microbial barometer of climate change. *Trends Microbiol*. 2017;25:76-84. Disponible en: <https://orcid.org/10.1016/j.tim.2016.09.008>



19. Di DYW, Lee A, Jang J, Han D, Hur HG. Season-Specific Occurrence of Potentially Pathogenic *Vibrio* spp. on the Southern Coast of South Korea. *Appl Environ Microbiol*. 2017;83(3):e02680-16. Disponible en: <https://orcid.org/10.1128/AEM.02680-16>
20. Abana D, Gyamfi E, Dogbe M, Opoku G, Opore D, Boateng G, *et al*. Investigating the virulence genes and antibiotic susceptibility patterns of *Vibrio cholerae* O1 in environmental and clinical isolates in Accra, Ghana. *BMC Infect Dis*. 2019;19(1):76. Disponible en: <https://orcid.org/10.1186/s12879-019-3714-z>
21. Wang H, Yang C, Sun Z, Zheng W, Zhan W, Yu H, *et al*. Genomic epidemiology of *Vibrio cholerae* reveals the regional and global spread of two epidemic non-toxigenic lineages. *PLoS Negl Trop Dis*. 2020;14(2):e0008046. Disponible en: <https://orcid.org/10.1371/journal.pntd.0008046>
22. Froelich BA, Daines DA. In hot water: effects of climate change on *Vibrio*-human interactions. *Environ Microbiol*. 2020; Mar 1. Disponible en: <https://orcid.org/10.1111/1462-2920.14967>
23. Valáriková J, Korcová J, Ziburová J, Čížová A, Bielíková S, Sojka M, Farkaš P. Potential pathogenicity and antibiotic resistance of aquatic *Vibrio* isolates from freshwater in Slovakia. *Folia Microbiologica*. 2019; Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s12223-019-00760-w>
24. Pérez C. Caracterización fenotípica de *Vibrio cholerae* no-O1 aislados de pacientes con diarreas Cuba. Tesis para optar por el título de Licenciado en Microbiología. La Habana, Cuba. 2013.
25. Cabrera L. Susceptibilidad a los antimicrobianos y factores de virulencia en cepas de *Vibrio cholerae* no-O1 aisladas de pacientes con enfermedad diarreica aguda. Tesis para optar por el título de Máster en Bacteriología-Micología. IPK, La Habana, Cuba. 2008.
26. Saleh T, Sabba MA, Asem KA, Hammad ZN. Identification of virulence factors in *Vibrio cholerae* isolated from Iraq during the 2007-2009 outbreak. *Can. J. Microbiol*. 2011;57:1024-31.
27. Fong JC, Syed KA, Klose KE, Yildiz FH. Role of *Vibrio* polysaccharide (vps) genes in VPS production, biofilm formation and *Vibrio cholerae* pathogenesis. *Microbiology*. 2010;156:2757-69. Disponible en: <https://orcid.org/10.1099/mic.0.040196-0>
28. Almagro-Moreno S, Pruss K, Taylor RK. Intestinal colonization dynamics of *Vibrio cholerae*. *PLoS Pathog*. 2015;11:e1004787. Disponible en: <https://orcid.org/10.1371/journal.ppat.1004787>
29. Jung JC, Lee MA, Lee KH. Role of flagellin-homologous proteins in biofilm formation by pathogenic. *Mbio*. 2019;10:e01793-19. <https://orcid.org/10.1128/mBio.01793>
30. Schirmeister F, Dieckmann R, Bechlar S, Bier N, Faruque SM, Strauch E. Genetic and phenotypic analysis of *Vibrio cholerae* non-O1, non-O139 isolated from German and Austrian patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014;33:767-78. Disponible en: <https://orcid.org/10.1007/s10096013-2011-9>
31. Weill FX, Domman D, Njamkepo E, Tarr C, Rauzier J, Fawal N, *et al*. Genomic history of the seventh pandemic of cholera in Africa. *Science*. 2017;358:785-9. Disponible en: <https://orcid.org/10.1126/science.aad5901>
32. Kumar P, Yadav P, Ingole KV, Jaiswal RK, Khalid NS., Deshmukh DG, *et al*. Emergence of Haitian variant genotype and altered drug susceptibility in *Vibrio cholerae* O1 El Tor-associated cholera outbreaks in Solapur, India. *Internat J Antimic Agents*. 2020;55. Disponible en: <https://orcid.org/10.1016/j.ijantimicag.2019.11.010>
33. Majano A. Susceptibilidad antimicrobiana de bacilos gramnegativos anaerobios facultativos oxidasa positiva. Tesis para optar por el título de Máster en Bacteriología-Micología. IPK, La Habana, Cuba. 2009.
34. Feglo PK, Sewurah M. Characterization of highly virulent multi-drug resistant *Vibrio cholerae* isolated from a large cholera outbreak in Ghana. *BMC Res Notes*. 2018;11:45. Disponible en: <https://orcid.org/10.1186/s13104-017-2923-z>
35. Calvo-Barbado DM. Formulario Nacional de Medicamentos. Ed. Calvo-Barbado DM, Delgado Martínez I. Editorial Ciencias Médicas. La Habana, 2014. Disponible en: [http://www.bvs.sld.cu/libros\\_texto/formulario\\_nac\\_medicamentos\\_4taed/indice\\_p.htm](http://www.bvs.sld.cu/libros_texto/formulario_nac_medicamentos_4taed/indice_p.htm)
36. Baron S, Larvor E, Chevalier S, Jouy E, Kempf I, Granier SA, *et al*. Antimicrobial susceptibility among urban wastewater and wild shellfish isolates of non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae* from La Rance estuary (Brittany, France). *Front Microbiol*. 2017;8:1637. Disponible en: <https://orcid.org/10.3389/fmicb.2017.01637>
37. Lepuschitz S, Baron S, Larvor E, Granier SA, Pretzer C, Mach RL *et al*. Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance traits of *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 isolated from a Large Austrian Lake frequently associated with cases of human infection. *Front. Microbiol*. 2019;10:2600. Disponible en: <https://orcid.org/10.3389/fmicb.2019.02600>
38. Beceiro A, Tomás M, Bou G. Antimicrobial Resistance and Virulence: A Successful or Deleterious Association in the Bacterial World? *Clinical Microbiology Reviews*. 2013;26(2):185-230. Disponible en: <https://orcid.org/10.1128/CMR.00059-12>
39. Bina X, Provenzano D, Nguyen N, Bina J. *Vibrio cholerae* RND family efflux systems are required for antimicrobial resistance, optimal virulence factor production, and colonization of the infant mouse small intestine. *Infection and Immunity*. 2008;76(8):3595-605.
40. Bordeleau E, Brouillette E, Robichaud N, Burrus V. Beyond antibiotic resistance: integrating conjugative elements of the SXT/R391 family that encode novel diguanylate cyclases participate to c-di-GMP signalling in *Vibrio cholerae*. *Environ Microbiol*. 2010;12:510-23.
41. Escudero JA, Mazel D. Genomic plasticity of *Vibrio cholerae*. *Int Microbiol*. 2017;20:138-48.
42. Cárdenas Perea M, Cruz Y, López O, Gándara Ramírez J, Pérez Hernández M. Factores de virulencia bacteriana: La inteligencia de las bacterias. *Elementos*. 2014;94:35-43.

---

Recibido: 06/10/2022

Aprobado: 13/01/2023

---

### Conflictos de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses entre ellos, ni con la investigación presentada.

### Contribuciones de los autores

Conceptualización: Anabel Fernández Abreu, Laura Bravo Fariñas  
 Curación de datos: Anabel Fernández Abreu, Yanaika Cruz Infante, Jenny L. Hernández Martínez  
 Análisis formal: Anabel Fernández Abreu, Laura Bravo Fariñas, Rosabel Falcón Márquez  
 Investigación: Anabel Fernández Abreu, Laura Bravo Fariñas, Adalberto Águila Sánchez  
 Metodología: Anabel Fernández Abreu, Laura Bravo Fariñas, Rosabel Falcón Márquez, María Eugenia Toledo Romaní

Administración del proyecto: Anabel Fernández Abreu

Recursos: María de los Ángeles León Venero

Supervisión: Laura Bravo Fariñas, María Eugenia Toledo Romani,  
María de los Ángeles León Venero

Visualización: Anabel Fernández Abreu, Waldemar Baldoquin  
Rodríguez, Alina Martínez Rodríguez, Dayana Rodríguez Velázquez,  
Ángel M. Germán Almeida

Redacción-borrador original: Anabel Fernández Abreu, Laura Bravo  
Fariñas

Redacción-revisión y edición: Laura Bravo Fariñas, Rosabel Falcón  
Márquez, Adalberto Águila Sánchez

#### Financiamiento

Los recursos utilizados fueron los otorgados por el Minsap para LNR-  
EDA para la vigilancia de enteropatógenos bacterianos.

#### Cómo citar este artículo

Fernández Abreu A, Bravo Fariñas L, Águila Sánchez A, Cruz Infante Y  
*et al.* Vibrio cholerae no-O1. Un patógeno potencial en Cuba. An Acad  
Cienc Cuba [internet] 2023 [citado en día, mes y año];13(3):e1346.  
Disponible en: [http://www.revistaccuba.cu/index.php/revacc/  
article/view/1346](http://www.revistaccuba.cu/index.php/revacc/article/view/1346)

El artículo se difunde en acceso abierto según los términos de  
una licencia Creative Commons de Atribución/Reconocimiento-  
NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0), que le atribuye  
la libertad de copiar, compartir, distribuir, exhibir o implementar sin  
permiso, salvo con las siguientes condiciones: reconocer a sus  
autores (atribución), indicar los cambios que haya realizado y no usar  
el material con fines comerciales (no comercial).

© Los autores, 2023.

