

Tecnológico Nacional de México

Instituto Tecnológico de Chetumal

Bacteria patógena *Vibrio vulnificus* asociada al *Sargassum*
spp. del Sur del Caribe Mexicano

Tesis Profesional para obtener el grado de

Licenciada en Biología

Arely Anahí García Ortégón

Director de Tesis

Dr. Sergio Cohuo Durán

Co-Director de tesis

Dr. Juan Ramón Beltrán Castro

Chetumal, Quintana Roo, México, 2025

DEDICATORIA

A Dios por estar conmigo en todo momento y jamás dejarme sola.

A mi madre Susana Ortigón por todo su apoyo y amor incondicional hacia mí, por inspirarme a ser mejor persona y dar lo mejor de mí, gracias por tus consejos y siempre orientarme. Mi compañera eterna, quien siempre me cuida gracias por todo.

A mi abuelita Mirtha Blanco por su amor y apoyo incondicional hacia mí, por cuidarme, protegerme y siempre estar conmigo, gracias por tanto y por todo.

A mi abuelito Rene Ortigón, mi ángel en el cielo.

A Obed, mi amor eterno, por siempre estar para mí, y brindarme su apoyo y amor incondicional. Quien espero siempre este a mi lado.

A Luis, quien es como mi hermano, por todo su apoyo y toda su ayuda en todo momento.

A Alejandra, mi gran amiga, que fortuna fue coincidir en esta carrera contigo, gracias por siempre escucharme, aconsejarme y ser mi cómplice en todo momento desde el día uno que nos conocimos, por tu cariño y apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar y especialmente quiero agradecer a mi director de tesis el Dr. Sergio Cohuo Durán por su asesoramiento, ayuda, orientación, y apoyo incondicional en todo momento a lo largo de este proyecto. Gracias por toda la paciencia que me ha tenido, que ha mi parecer fue infinita. Muchas gracias por todo.

A mi co-director, el Dr. Juan Ramon Beltrán Castro por todo el apoyo que me ha brindado, por la compañía y asesoramiento en el trabajo de laboratorio. Gracias por su tiempo, y por compartir su conocimiento conmigo.

Agradezco al Instituto Tecnológico de Chetumal por permitirme llevar a cabo mis estudios de licenciatura y contribuir con mi formación académica.

Agradezco al Instituto Tecnológico de Zona Maya por el apoyo brindado para la realización de una gran parte del trabajo de laboratorio en el Laboratorio de Estudios avanzados en Agroecosistemas.

Al Dr. Luis Lara Pérez y Dr. Alfredo Montalvo Yáñez por el asesoramiento sobre la técnica de extracción de ADN y la técnica PCR.

Al Ing. Samuel Elías Rosado Martin por el acceso al Laboratorio de Microbiología en el Instituto Tecnológico de Chetumal

A mis compañeras y amigas Alejandra, Monse, Lurvin, Cinthia, y Nayeli por su compañía en salidas a campo y en el trabajo de laboratorio.



Educación
Secretaría de Educación Pública



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO



Instituto Tecnológico de Chetumal
Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica

SECCIÓN: DEPTO. ING. QUÍM. Y BIOQ.
OFICIO No 0437-DT-2025

Chetumal, Q. Roo., 30 Mayo/2025

ASUNTO: Liberación de Proyecto para Titulación Integral

LIC. CECILIA LORÍA TZAB
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES
PRESENTE

Por este medio le informo que ha sido liberado el siguiente proyecto para la Titulación integral:

a) Nombre del Egresado:	ARELY ANAHI GARCÍA ORTEGÓN
b) Carrera:	LICENCIATURA EN BIOLOGÍA
c) N° de control	19390250
d) Nombre del proyecto	BACTERIA PATÓGENA <i>Vibrio vulnificus</i> ASOCIADA AL <i>Sargassum</i> spp. DEL SUR DEL CARIBE MEXICANO.
d) Producto	TITULACIÓN INTEGRAL (TESIS)

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica-
*Cultura, Ciencia y Tecnología para la Superación de México**

M.C. ALEJANDRO MEDINA QUEJ
JEFE DEL DEPTO. DE INGENIERÍA QUÍMICA Y BIOQUÍMICA.



DR. SERGIO COHUO DURAN ASESOR	ING. SAMUEL ELÍAS ROSADO MARTÍN REVISOR	QFB. JUAN CARLOS AZUELA CARDENAS REVISOR

C.c.p. Expediente



2025
Año de
La Mujer
Indígena

Av. Insurgentes #330, esq. Andrés Quintana
Roo, Col. David Gustavo Gutiérrez, Apdo. Postal
67 C.P. 77013,
Chetumal, Quintana Roo. Tel. (983) 8322330
ext. 101. / www.chetumal.tecnm.mx



INDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
3. MARCO TEORICO	4
4. JUSTIFICACION	5
5. OBJETIVOS	6
5.1 Objetivo general	6
5.2 Objetivos específicos	6
6. METODOLOGIA	7
6.1 Área de estudio	7
6.2 Trabajo en campo	8
6.3 Trabajo en laboratorio	8
Extracción de ADN y amplificación del gen 16S	9
6.6 Determinación de variedad clínica o ambiental para <i>Vibrio vulnificus</i> .	11
6.7 Análisis de datos	11
7. RESULTADOS	13
7.1 Distribución espacial de bacterias patógenas	17
7.2 Pruebas moleculares	21
8. DISCUSIÓN	24
9. CONCLUSIÓN	28
10. FUENTES DE INFORMACIÓN	29

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de la Península de Yucatán mostrando el área de estudio en el sur del Caribe Mexicano. Los puntos representan los sitios de muestreo.	7
Figura 2. Género <i>Vibrio</i> spp. A) colonias amarillas; B) colonias verdes	13
Figura 4. Composición y abundancia de <i>Vibrio</i> sp. en la temporada inicio del arribo de sargazo.	14
Figura 5. Composición y abundancia de <i>Vibrio</i> sp. en la temporada durante del arribo de sargazo.....	15
Figura 6. Composición y abundancia de <i>Vibrio</i> sp. en la temporada posterior del arribo de sargazo.....	15
Figura 7. Análisis de Componentes Principales mostrando la influencia de las variables ambientales pH, conductividad, temperatura, salinidad, oxígeno disuelto y bacterias patógenas sobre los periodos de arribazón.	17
Figura 8. Mapa interpolado de la distribución relativa de <i>Vibrio vulnificus</i> en el sur del Caribe Mexicano para el periodo inicio (software Surfer Golden, algoritmo de interpolación Kriging).	18
Figura 9. Mapa interpolado de la distribución relativa de <i>Vibrio vulnificus</i> en el sur del Caribe Mexicano para el periodo durante (software Surfer Golden, algoritmo de interpolación Kriging).	19
Figura 10. Mapa interpolado de la distribución relativa de <i>Vibrio vulnificus</i> en el sur del Caribe Mexicano para el periodo posterior (software Surfer Golden, algoritmo de interpolación Kriging).	20
Figura 11. Prueba de amplificación para la estandarización de temperatura y concentración utilizando la muestra 6 en cada pozo con los primer vvh-785 y vvh-1302.	21
Figura 12. Amplificación de todas las muestras de ADN genómico, con una temperatura optima de 65.9°C y una concentración de 10ng/μ.	22
Figura 13. Estandarización de temperatura De alineación con las sondas P1, P2, P3 para el ADN templado y el ADN genómico. En todos los pozos se encuentra la muestra 2.....	22
Figura 14. Amplificación del DNA genómico con las sondas P1 y P3. Las muestras 1,2,3,4,5,6,9,10,12,14 y 15 dieron positivas para cepas clínicas. Las muestras 7,8,11,13 no dieron positivo.....	23
Figura 15. Amplificación para las cepas ambientales con las sondas P2 y P3. Únicamente la muestra 13 dio positivo para las cepas ambientales.	23

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Total de bacterias obtenidas para el género <i>Vibrio</i>	13
Tabla 1. Comparaciones pareadas entre las diferentes temporadas inferido mediante un análisis de ANOSIM por el modelo de Bray-Curtis.....	16

RESUMEN

Actualmente, en los ambientes marinos costeros tropicales, como el Mar Caribe, se ha encontrado un incremento de bacterias altamente patógenas que pueden infectar a los seres humanos mediante la aspiración, el contacto con tejido expuesto o el consumo de alimentos provenientes del mar. La mayoría de estos patógenos requieren condiciones específicas para su proliferación, como lo es la disponibilidad de biomasa y nutrientes. La acumulación masiva del sargazo es un medio propicio para el incremento de bacterias patógenas en la zona costera en el Caribe Mexicano. En esta región desde el 2011, se han registrado arribos masivos anuales con permanencia en el rango de meses. El sargazo, al encontrarse estancado y comenzar su proceso de descomposición segrega compuestos como ácido sulfhídrico, amoníaco, fenoles y compuestos volátiles así como nitrógeno y fósforo que son aprovechados por las bacterias como nutrientes. El amoníaco que se libera del sargazo es proveniente de la descomposición de sus proteínas y compuestos nitrogenados y puede servir como fuente de nitrógeno para las bacterias. El objetivo de esta investigación es determinar la presencia y abundancia espacial y temporal de una bacteria altamente patógena para el hombre, *Vibrio vulnificus*, durante un periodo de arribazón del sargazo en el sur del Caribe Mexicano. *Vibrio vulnificus* como patógeno está asociado con cuadros sépticos, fallos en los órganos, fascitis necrosante, amputación de extremidades y pueden incluso ocasionar la muerte. Se realizaron muestreos desde Punta Herrero hasta Xcalak durante junio-diciembre 2023, inicio, durante y posterior a la llegada de sargazo. Se colectaron muestras de agua y sargazo flotante de los cuales, se cultivaron bacterias en medios nutritivos. Se realizaron aislamientos en agar selectivo TCBS para *V. vulnificus*. Se observó la presencia de vibrios en el 90% de los sitios de muestreo. Se encontraron diferencias significativas ($p=0.0001$), en la presencia y abundancia de vibrios entre periodos de estudio, pero no se encontró significancia entre sitios de muestreo. La presencia de sargazo puede incrementar la abundancia de vibrios hasta 3000 colonias 100ml⁻¹, mientras que en ausencia de sargazo la abundancia fue de 500 colonias 100ml⁻¹. Para la identificación de las cepas de *Vibrio*, se aislaron las cepas bacterianas en monocultivos y se realizaron extracciones de ADN y amplificación del gen 16s para cada monocultivo. Mediante el peso molecular del amplicón se determinó la presencia de *V. vulnificus* en el 90% de las muestras analizadas. Mediante sondas moleculares se determinó que las cepas de *V. vulnificus*, son del 70% tipo clínico, es decir con potencial infeccioso para el hombre; y del 30% del tipo ambiental. En este estudio se determinó que el sargazo promueve un incremento dramático de la abundancia de las

bacterias patógenas *V. vulnificus* y que la interacción con sargazo representa un riesgo para la salud al estar dominado por cepas clínicas con alto potencial de infección.

1. INTRODUCCIÓN

Las bacterias patógenas son un grupo multivariable de microorganismos procariontes, que en sus procesos metabólicos pueden segregar toxinas potencialmente dañinas para los organismos (Pandey et al., 2014). La detección de patógenos en ambientes acuáticos se ha documentado desde hace aproximadamente 100 años, particularmente en aguas contaminadas por descarga de aguas residuales (Kristian Stevik et al., 2004). Enfermedades relacionadas con bacterias patógenas y que encuentran en los ambientes acuáticos medios efectivos de transmisión, incluyen a la disentería, tifoidea y colera (García Palomo et al., 2010). En los ambientes costeros, existen bacterias patógenas que pueden infectar a los seres humanos a través de dos vías principales: la aspiración, contacto con tejido expuesto o el consumo de alimentos provenientes del mar previamente infectado (Becerra-Tapia & Botello, 1996). Los efectos en el hombre de la contaminación por bacterias patógenas en zonas costeras pueden incluir desde síntomas muy leves hasta problemas respiratorios agudos, infecciones en la piel, oídos o desordenes gastrointestinales y hepáticos severos (Váradí et al., 2017).

Actualmente, en las regiones tropicales existe una principal bacteria patógena que afecta a los seres humanos: *Vibrio vulnificus*.

La bacteria *V. vulnificus* está asociada a cuadros sépticos con una tasa de mortalidad alta de entre 56% y 61% (Poblete U et al., 2002). Se encuentra en los mares tropicales, ya que necesita una salinidad de 0.7 a 1.6‰ y temperaturas mayores a 20°C para su óptimo desarrollo, así que las aguas cálidas son excelentes hábitats para esta bacteria (Jones & Oliver, 2009). Algunos factores adicionales que influyen la distribución de estas bacterias son los gradientes medioambientales, tales como la salinidad, temperatura, disponibilidad de nutrientes, así como los factores biológicos, que incluyen la abundancia de dinoflagelados, depredación y hospedadores (Oliver, 2006). Los vibrios son bacterias que están muy estudiados en los sistemas costeros, ya que estos provocan casos de mortalidad, patologías, y grandes pérdidas económicas, debido a que se encuentran presentes en animales marinos que se alimentan por filtración, como los bivalvos (Aliaga et al., 2010). Las dos principales causas de infección por este microorganismo son el consumo de moluscos contaminados y a través de heridas las cuales se asocian a la exposición que tienen con el agua de mar (Muñoz et al., 2012).

Actualmente el arribo masivo del sargazo a las playas del Caribe Mexicano podría representar un riesgo en el incremento de bacterias patógenas en la zona costera. Puesto que, a nivel mundial, la acumulación de sargazo promueve la permanencia y crecimiento de bacterias patógenas. El sargazo, son macroalgas marinas que presentan colores y texturas variadas pertenecientes al género *Sargassum*. Dos especies son las que hasta ahora se han identificado en la región: *S. natans* (linneaus) Gaillon y *S. fluitans* (Borgessen) (Oyesiku, 2024). Existe la relación entre bacterias patógenas con más especies de sargazo, como, por ejemplo, las bacterias *Bacillus*, *Paracoccus* y *Propionibacterium* están relacionadas con *S. horneri* en el Mar amarillo. Se tiene conocimiento sobre las interacciones entre las macroalgas con las bacterias, debido a que el sargazo proporciona oxígeno, carbohidratos y hábitat a las bacterias que se encuentren en asociación. De igual manera las bacterias pueden proporcionar vitaminas, minerales y dióxido de carbono al sargazo, por lo que desempeñan papeles importantes en su morfogénesis y crecimiento (Mei et al., 2019).

Los arribazones son los eventos periódicos donde las grandes cantidades de macroalgas se conglomeran y llegan a las playas, esto es debido a la gran producción de nutrientes que hay en el mar (Ortegón-Aznar & Ávila-Mosqueda, 2020). Para el año 2014, se dio un aumento masivo en la llegada del sargazo, afectando al sector turístico, el cual es una de las fuentes económicas más importantes para México y Quintana Roo (Hervé et al., 2021). En el siguiente año 2015, el arribo de sargazo incremento, detectándose la acumulación de 2360 m³ de sargazo por kilómetro de playa al mes (Caballero, 2020).

En este estudio, se evalúa la presencia y aumento de poblaciones de *V. vulnificus* asociado con el arribo del sargazo en el sur del Caribe mexicano.

2. ANTECEDENTES

Las bacterias con mayor afectación a la salud, son las bacterias del género *Vibrio*, particularmente *V. vulnificus* (bacterias come carne). Estas bacterias se distribuyen ampliamente en el mundo, pero con mayor incidencia de contagios en la región tropical. Tacket (1984) aislaron *V. vulnificus* de heridas abiertas las cuales estuvieron en contacto con aguas de un embalse de Oklahoma y un arroyo de nuevo México. Ambos sistemas eran de aguas salobres. Se encontró que los aislamientos clínicos crecieron con salinidades bajas, por lo que inclusive en agua salobres estas bacterias patógenas pueden adaptarse, siendo capaces de producir infecciones (Tacket et al., 1984).

En ambiente marino, también se ha encontrado la presencia de bacterias patógenas. López (2020) investigó la presencia y composición de micro y meiofauna asociada a *Sargassum* de las costas atlánticas de Martinica y Guadalupe en tres diferentes puntos; un sitio intermareal, agua de mar ambiental y sitios internos de almacenamiento de algas. Colectó 100 muestras en los episodios de marea del 2018. Se obtuvo como resultado la presencia de bacterivoros, arqueas metanogénicas, bacterias productoras de nitrato y sulfato, y patógenos candidatos. Esto indica que existen relaciones tróficas entre el sargazo y los microorganismo (Lopez et al., 2020).

En 2022, en el mes de Octubre el Departamento de Florida informo que después del huracán Ian categoría 5, aumentaron los casos de infecciones por vibriosis y *V. vulnificus*, con un total de 74 casos y de 17 muertes, lo doble de lo reportado en 2021 (Brumfield, Usmani, et al., 2023).

En 2023 el Departamento de Salud de Florida alertó sobre la presencia de la bacteria *V. vulnificus* extendiéndose sobre la Costa del Golfo de México y notificando la muerte de cinco personas debido a la infección por esta bacteria (Morales Omar, 2023).

Desde 2011 la llegada de sargazo a las costas del Caribe Mexicano se convirtió en una problemática ambiental, pero fue entre 2014 y 2015 cuando los arribazones se intensificaron de manera significativa afectando particularmente los sistemas costeros debido a la acumulación y descomposición de las algas, así como a la salud humana y la industria turística (Elisa & van Tussenbroek, 2016).

3. MARCO TEORICO

El estudio se realizó en el sur del Caribe Mexicano, desde Punta Herrero hasta Xcalak. Esta zona cuenta con un clima cálido-húmedo con temperaturas de 24°C a 35°C durante todo el año. Tiene una temporada de lluvias de mayo a octubre y una temporada de secas de noviembre a abril. Esta es una región susceptible a huracanes, especialmente entre los meses de junio a noviembre. En 2023 la cifra de turistas que arribaron a las playas del sur del Caribe Mexicano fueron aproximadamente 210,962 (SEDETUR, 2023).

Actualmente a esta zona llegan grandes cantidades de sargazo, las cuales varían año con años, pero desde 2015 se ha visto un aumento significativo, y se ha estimado entre 200,000 y 1,000,000 de toneladas en años recientes (Mohan & Strobl, 2024). El sargazo es un alga marina que ha proliferado en el océano Atlántico a raíz del cambio climático, la contaminación, los nutrientes del agua y las corrientes marinas que se encargan de transportar a estas algas desde su lugar de origen hasta México. Al llegar a las playas, las inmensas cantidades se quedan estancadas en las costas, ocasionan un deterioro en los hábitats naturales, la pérdida de flora y fauna y afectaciones a la vida marina (WECAFC, 2023).

Bacterias de alta patogenicidad

Una bacteria que se encuentra relacionada con el sargazo es *Vibrio vulnificus*. Es un bacilo gramnegativo, recto, curvo, son móviles, oxidasa positiva y no esporulados. Se comportan como anaerobios facultativos y se encuentra en los ambientes marinos, particularmente en aguas cálidas y salinas (Mecalco & Encb, 2005). Tiene una alta patogenicidad por lo que causa infecciones graves a los seres humanos a través de heridas expuestas al mar o sustrato contaminado y mediante el consumo de mariscos contaminados. Provoca afecciones graves en la salud como vómitos, fiebres, problemas gastrointestinales, así como provocar fascitis necrosante, lo que significa que el tejido alrededor de la herida muere, lo que lleva a la pérdida de extremidades, y en la mayoría de los casos, provoca la muerte.

4. JUSTIFICACION

Las bacterias patógenas son un riesgo ambiental y social a nivel mundial, debido a que cuando entran en contacto con otros seres, provocan enfermedades infecciosas que pueden ocasionar hasta la muerte. La bacteria *Vibrio vulnificus* es un patógeno peligroso para el hombre y para las comunidades biológicas que habitan aguas costeras tropicales.

Se ha detectado la presencia e incremento de esta bacteria patógena en el sur de Florida y Golfo de México. Se asume que podría existir la presencia de esta bacteria en el Caribe, pero hasta ahora no existe una determinación cuantitativa, espacial o temporal de la distribución de las bacterias.

Se evalúa la zona sur del Caribe Mexicano porque es una zona con creciente actividad turística y económica relacionada con la zona costera. En esta región existen poblaciones como Mahahual que cuenta con una población de 2,636 habitantes e Xcalak con 436 habitantes (INEGI, 2020). Ambos poblados se encuentran en proceso de desarrollo urbano y con población flotante por el arribo de turistas. Actualmente Mahahual cuenta con visitas de hasta 300,000 turistas al año, debido a los cruceros que arriban a la localidad.

Tanto la población residente, como la visitante, están en riesgo de adquirir enfermedades relacionadas con bacteria patógenas asociadas al arribo del sargazo. En particular, a melioidosis, infecciones severas, cuadros sépticos, amputaciones de extremidades, que de incrementarse podrían representar un problema de salud pública a nivel regional.

Actualmente, el arribo masivo de sargazo a las playas del sur del Caribe Mexicano representa una gran problemática ecológica, social y económica ya que se mantiene hasta durante cinco meses (Bäumler & Sperandio, 2016). Las bacterias tienen un óptimo crecimiento a temperaturas de entre 24° y 30°C y salinidades de entre 36 a 44 partes por mil. Por lo que las aguas del Caribe Mexicano y la acumulación de sargazo, son propicias para su proliferación (Arreola-Lizarraga et al., 2020). Este trabajo representa uno de los primeros en relacionar bacterias patógenas con sargazo en el Caribe Mexicano.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

- Determinar la presencia y abundancia espacial y temporal de bacterias patógenas *Vibrio vulnificus* en un ciclo de arribo de sargazo en el sur del Caribe Mexicano.

5.2 Objetivos específicos

- Identificar la presencia de bacterias patógenas *V. vulnificus* al inicio, durante y después del arribo del sargazo a la franja costera de Punta Herrero- Xcalak.
- Contrastar la abundancia de bacterias patógenas entre sitios de muestreo y periodos de arribazón.
- Determinar el tipo de cepa (clínica vs ambiental) de las bacterias en estudio para inferir su patogenicidad.

6. METODOLOGIA

6.1 Área de estudio

El sur del Caribe Mexicano corresponde con el sur del estado de Quintana Roo, y abarca desde las comunidades de Xcalak hasta Punta Herrero (Figura 1). Mide longitudinalmente ~125 km, y se caracteriza por un clima tropical, con temperatura media anual de 26°C (Álvarez-Filip, 2020).

Presenta una época de sequía en los meses de Noviembre a Abril y una época de fuertes lluvias periódicas en los meses de Mayo a Octubre (Elisa & van Tussenbroek, 2016). El Caribe Mexicano es una zona propensa a tener impactos de huracanes y debido al cambio climático se han presentado huracanes con categorías intensas (vientos mayores a 250 km/h) a lo largo del tiempo. El territorio es plano, con vegetación de selva baja tropical y costas junto al mar Caribe, las cuales poseen playas manglares, bahías y caletas (Güemes-Ricalde & Correa-Ruiz, 2009)

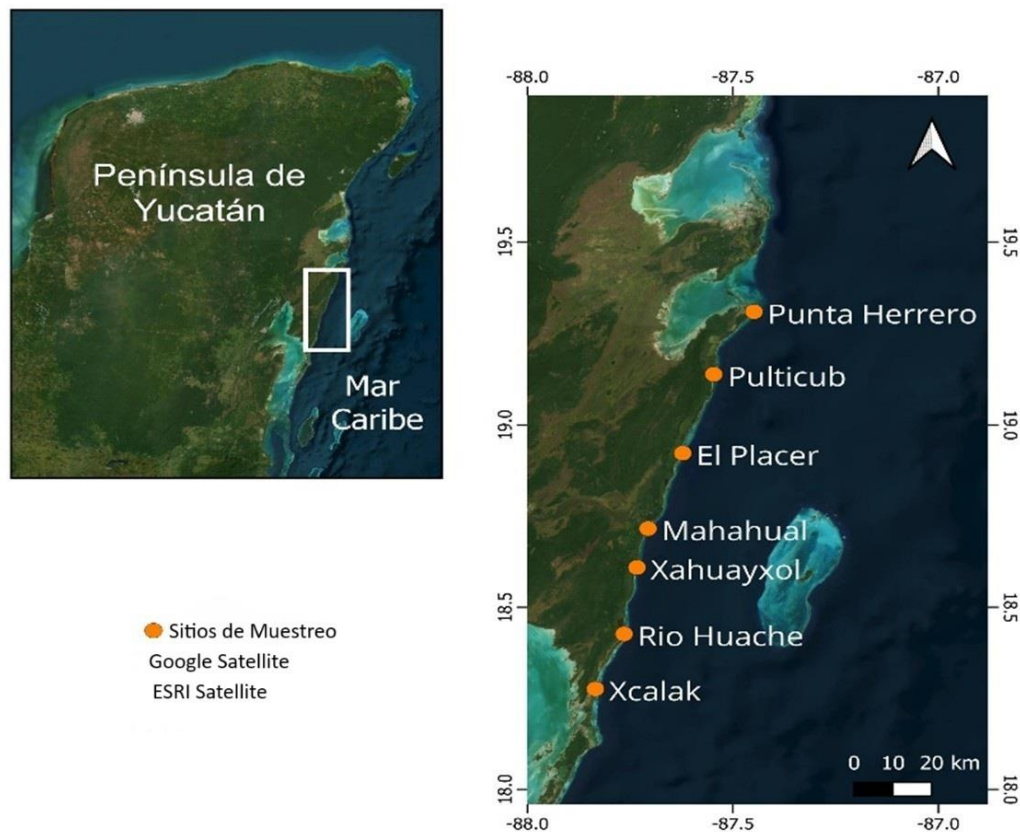


Figura 1. Mapa de la Península de Yucatán mostrando el área de estudio en el sur del Caribe Mexicano. Los puntos representan los sitios de muestreo.

6.2 Trabajo en campo

La recolección de muestras se realizó en la región sur del Caribe Mexicano, desde Punta Herrero hasta Xcalak (figura 1). Se colectaron muestras del sargazo arribado de enero a diciembre 2023, coincidiendo con un ciclo de arribo de sargazo. Se distinguieron 3 periodos: inicio en los meses de junio y julio, durante en los meses de agosto y septiembre y posterior, una vez que el sargazo se ha retirado de las costas en los meses de octubre y noviembre. En cada visita y por cada sitio se colectaron muestras por duplicado de sargazo y agua. Se utilizaron bolsas whirlpack estériles de 500ml y se tomaron un total de 84 muestras. En campo las muestras se preservaron en una nevera con hielo hasta su traslado al laboratorio. En cada sitio, se midieron datos ambientales como temperatura, oxígeno disuelto, conductividad, salinidad y pH, utilizando un multisensor portátil tipo sonda.

6.3 Trabajo en laboratorio

Cultivo, conteo e identificación morfológica

El aislamiento de las bacterias se realizó en el Laboratorio de Microbiología del Instituto Tecnológico de Chetumal. Todas las muestras se filtraron utilizando una bomba de vacío, a través del método filtración por membrana utilizando membranas de nitrocelulosa de 0.45µm. Posterior al aislamiento por filtración, las membranas fueron colocadas en tubos de ensaye que contenían el medio de enriquecimiento Agua Peptonada Alcalina y posteriormente fueron incubadas a una temperatura de 37°C durante 48 horas.

Para el cultivo de *Vibrio vulnificus* se realizó un enriquecimiento inicial de la muestra con el medio Agua Peptonada Alcalina e incubación a una temperatura de 37°C. Posteriormente se realizó una siembra en medio TCBS (Agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa) con una incubación de 18-24 horas a una temperatura de 37°C.

Para estimar la abundancia relativa de bacterias se utilizó un contador de colonias digital (digital colony counter). Después de 24 horas de cultivo, se dispusieron las cajas Petri de cultivo sobre la cuadrícula bajo la lupa del contador y con el marcador correspondiente se numeraron las colonias y los resultados se registraron en una bitácora.

Las colonias morfológicamente diferentes fueron aisladas para obtener monocultivos. Las resiembras se realizaron en el medio correspondiente. Este proceso se repitió hasta que se alcanzaron monocultivos.

Extracción de ADN y amplificación del gen 16S

Con la finalidad de determinar la identidad taxonómica de los morfotipos encontrados en el género *Vibrio*, se realizaron extracciones de ADN de monocultivos obtenidos en la resiembra de las muestras. Para esto se utilizó el Quick-DNA™ Fungal/Bacterial Miniprep Kit, el cual es utilizado para el aislamiento de hongos y bacterias. Primero, se tomó una muestra de las colonias bacterianas y se disolvió en 200µl de agua grado molecular. Posteriormente, las muestras fueron dispuestas en un tubo de lisis con “perlas” agregando con una micropipeta 750µl de BashingBead™ buffer y llevadas a un mezclador vorticial durante 5 minutos, posteriormente las muestras se pusieron en la incubadora de baño seco durante 40 minutos.

Seguidamente las muestras fueron colocadas en una microcentrífuga a 10,000xg durante 1 minuto. Con el sobrenadante obtenido se transfirieron 400µl a un filtro Zymon-Spin™ III-F con un tubo de recolección y se centrifugo a 8,000xg durante 1 minuto. Se agregan 1,200µl de Genomic Lysis Buffer al tubo de recolección del filtrado principal. Se transfirieron 800µl de la mezcla anterior al Zymon-Spin™ IICR column en un tubo de recolección y se centrifugo a 10,000xg durante 1 minuto. A continuación, se desechó el flujo obtenido y se repitieron los pasos anteriores.

Seguidamente a la mezcla obtenida se le agregaron 200 µl de DNA Pre-Wash Buffer en el Zymon-Spin™ IICR column con un nuevo tubo de recolección y se llevó a centrifugar a 10,000xg durante 1 minuto. Se le agrego 500µl de g-DNA Wash Buffer al Zymon-Spin™ IICR column y se centrifugo a 10,000xg durante 1 minuto. Se transfirió el Zymon-Spin™ IICR column a un tubo de microcentrífuga nuevo de 1,5ml y se le agrego 35µl de DNA Elution Buffer, se llevó a la microcentrífuga a 10,000xg durante 30 segundos para eluir el ADN. Finalmente, las muestras fueron llevadas al espectrofotómetro BioSpectrometer kinetic para conocer la concentración final de ADN después de la extracción de ADN.

Se utilizó una sección de 518 pares de bases del gen nuclear 16S para identificar la especie *Vibrio vulnificus*; para ello se utilizaron los primers vvh-785, vvh-1302 (Rosche, 2005). Inicialmente se realizó una estandarización de PCR, que consistió en la preparación de los stocks de los oligonucleótidos. Después se dividió la solución en alícuotas con una concentración final de 100µm/µl. Posteriormente los stocks y las alícuotas fueron guardadas en una caja y llevadas al congelador hasta su uso.

Para la estandarización se hicieron dos diluciones de ADN templado, la primera con 6 tubos de PCR a una concentración de 10ng/µl y la segunda con 6 tubos de PCR a una concentración a 1ng/µl. Para la estandarización y optimización del protocolo de PCR punto final, a cada tubo se le agregaron los siguientes parámetros: 9.5µl de agua destilada, 12.5µl de la MyTaq Mix, 1µl del primer vvh-785, 1µl del primer vvh-1302, 1µl del ADN templado por cada tubo separado con anterioridad, con un volumen final de 25µl, las muestras fueron llevadas al termociclador de la marca DLAB modelo TC1000-G, donde la temperatura de alineamiento fue evaluada de 65°C a 69°C (T_M calculada). Para la visualización de los resultados de la amplificación, se realizaron geles de agarosa al 1% y mediante electroforesis se evaluaron los pesos moleculares de los fragmentos amplificados.

Los parámetros óptimos para realizar la amplificación fueron una concentración de 10ng/µl de ADN templado, temperatura de alineamiento de 65.3°C y para la reacción final de PCR se utilizaron 2µl del ADN. El programa de PCR estandarizado fue el siguiente: pre-desnaturalización a 95°C durante 1 minuto, desnaturalización a 95° durante 15 segundos, alineación a 65.3°C durante 10 segundos, polimerización a 72°C durante 10 segundos y la extensión final a 72°C durante 2 minutos, por 30 ciclos.

Para determinar el éxito de la amplificación se realizó un análisis de electroforesis en geles de agarosa 1%. Para el gel primero se preparó 1L de TAE BUFFER concentrado al 1X, con la siguiente fórmula $V1=C2*V2/C1$. Posteriormente, se utilizaron 0.3gr de agarosa grado molecular, la cual fue disuelta en el TAE BUFFER. La mezcla se calentó hasta disolverse por completo y el líquido quedara transparente. Se dejó enfriar y se le agregaron 2µl de bromuro de etidio como revelador. Luego se vertió en una moldura en la caja de electroforesis con unos peines que formaron los pocillos. Para preparar las muestras, con ayuda de una micropipeta se tomaron 2µl de los productos de PCR se mezcló con 1µl de azul de bromofenol como buffer de carga, esto para añadir densidad, visibilidad y facilitar la carga en los pocillos del gel. En cuanto el gel se solidificó se colocó en la cámara de

electroforesis y se cubrió con TAE BUFFER. Con ayuda de la micropipeta se cargaron cuidadosamente las muestras y los marcadores de tamaño en los pocillos de gel. Posteriormente se conectó la cámara de electroforesis y se aseguró de que la polaridad este correcta. Se dejó que la electroforesis se ejecutara durante 35 minutos aproximadamente y un voltaje de 90. Para su visualización el gel se retira de la cámara de electroforesis y se deposita en la bandeja ultravioleta, para ingresarla al fotodocumentador Gel Doc Ez imager BIO-RAD. Después abrimos el programa y se procedió a observar y fotografiar el resultado de las bandas de ADN.

6.6 Determinación de variedad clínica o ambiental para *Vibrio vulnificus*.

Para determinar el tipo de cepa, clínica o ambiental, se usaron las sondas P1 (cepas clínicas), P2 (cepas ambientales) y P3 (control) (Rosche et al., 2005). Se realizaron amplificaciones con los siguientes parámetros de PCR, 8.5µl de agua destilada, 12.5µl de la MyTaq Mix, 1µl de las sondas correspondientes (P1/P3 Y P2/P3), así como 2µl de ADN templado (concentración 10 ng/ µl). Posteriormente se corrió nuevamente el ciclo de PCR con el perfil ya estandarizado, la pre-desnaturalización a 95°C durante 1 minuto, la desnaturalización a 95°C durante 15 segundos, alineación a 65°C durante 10 segundos, la polimerización a 72°C durante 10 segundos y finalmente la extracción final a 72°C durante 2 minutos, con la repetición de 30 ciclos.

Mediante electroforesis en gel se visualizaron las bandas amplificadas que correspondan al peso del amplicón.

6.7 Análisis de datos

Para determinar diferencias significativas entre las abundancias de bacterias patógenas entre sitios y temporadas, se realizó una prueba ANOSIM de dos vías, siendo la primera vía los sitios y la segunda, la temporada. Inicialmente los datos se transformaron a valores de similitud usando el modelo de Bray Curtis. Para determinar diferencias entre tratamientos (sitios y temporadas), se realizaron individualmente pruebas pareadas de ANOSIM para determinar cuáles eran los periodos que hacen la diferencia en el software Past.

A continuación, para estimar la influencia relativa de las variables ambientales sobre la composición bacterianas, se realizó un análisis de componentes principales y se determinaron aquellas variables que son más influyentes del ambiente.

Para representar la abundancia y distribución de las bacterias en la zona de estudio, se generó un modelo interpolado de la distribución y abundancia de las bacterias usando el algoritmo de Kriging. Los cálculos se realizaron en el software Surfer (Golden Software Inc., Golden, CO, USA).

7. RESULTADOS

Se recolectaron un total de 84 muestras de sargazo flotante y agua. Para el género *Vibrio* se obtuvieron 2 morfologías distintas; colonias verdes y amarillas.

Tabla 2. Total de bacterias obtenidas para el género *Vibrio*.

Temporada	Total de bacterias	Morfotipo 1 (amarillas)	Morfotipo 2 (verdes)
Inicio	29,380	11,775	17,605
Durante	25,703	1,050	24,653
Después	588	0	588

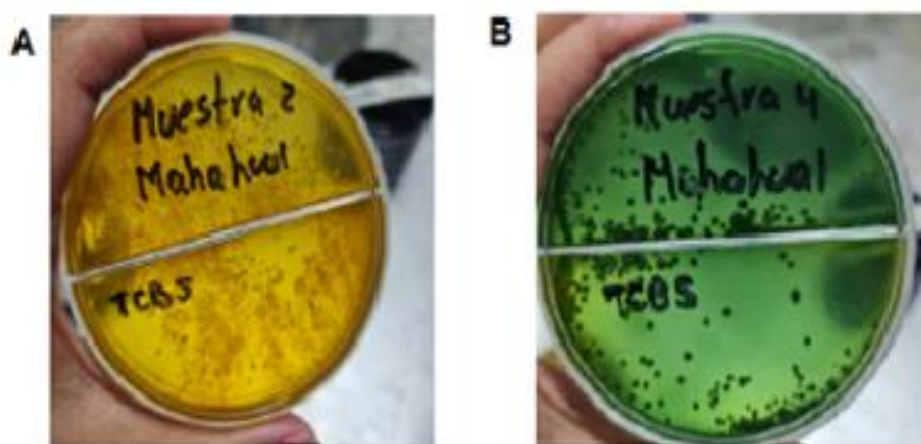


Figura 2. Género *Vibrio* spp. A) colonias amarillas; B) colonias verdes

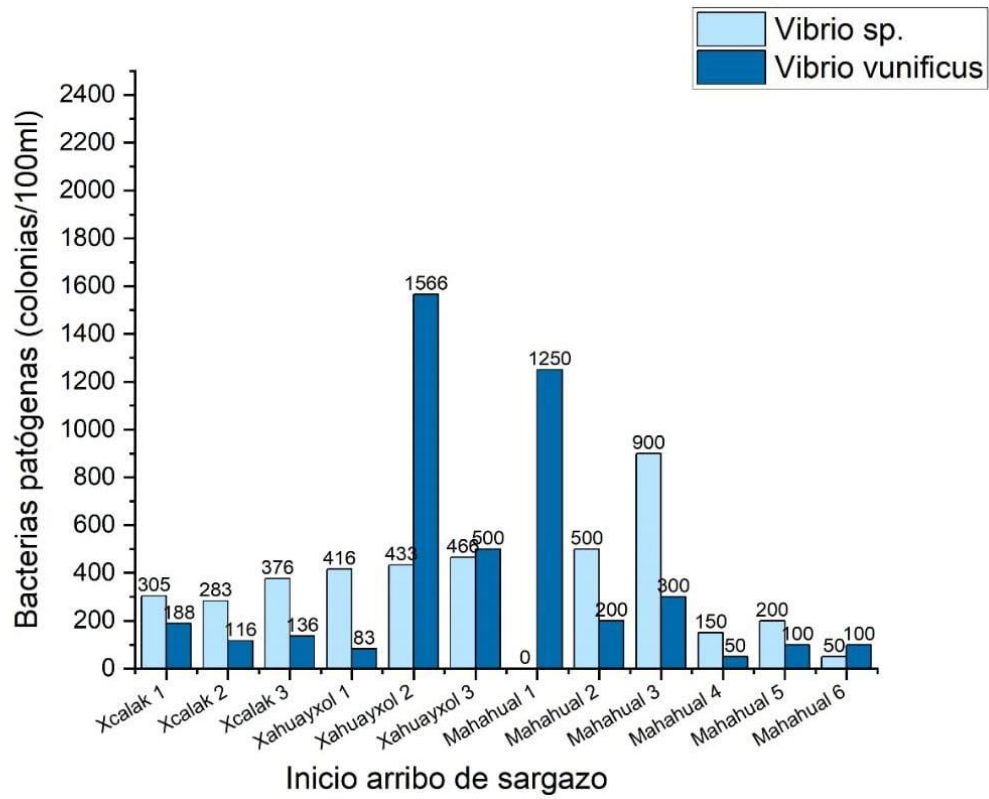


Figura 3. Composición y abundancia de *Vibrio sp.* en la temporada inicio del arribo de sargazo.

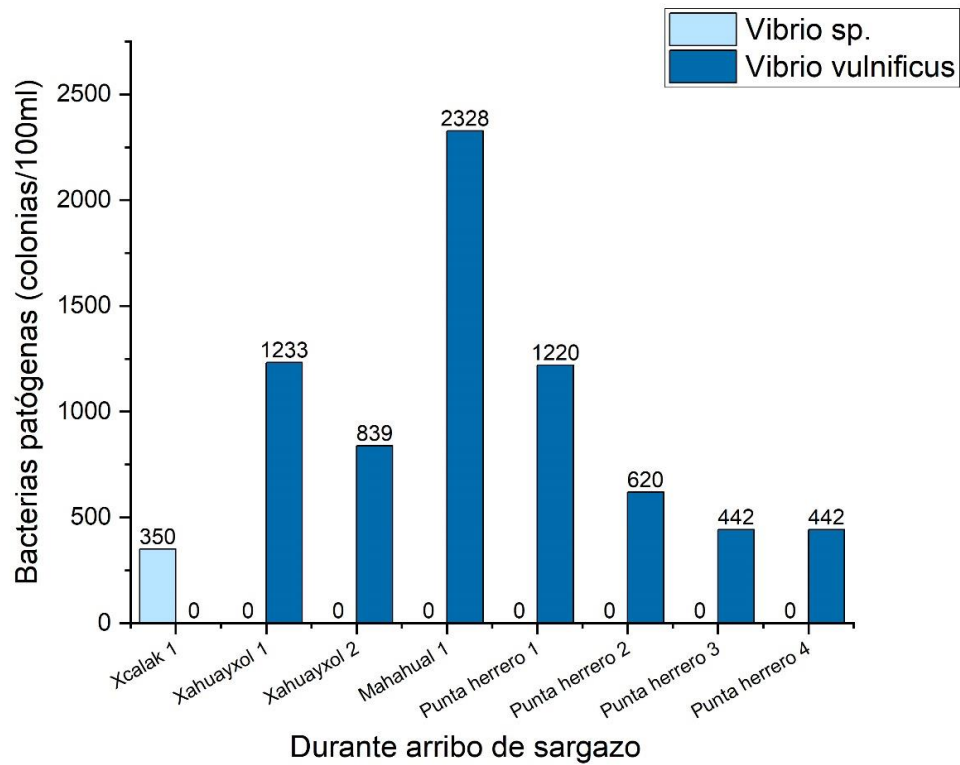


Figura 4. Composición y abundancia de *Vibrio sp.* en la temporada durante del arribo de sargazo.

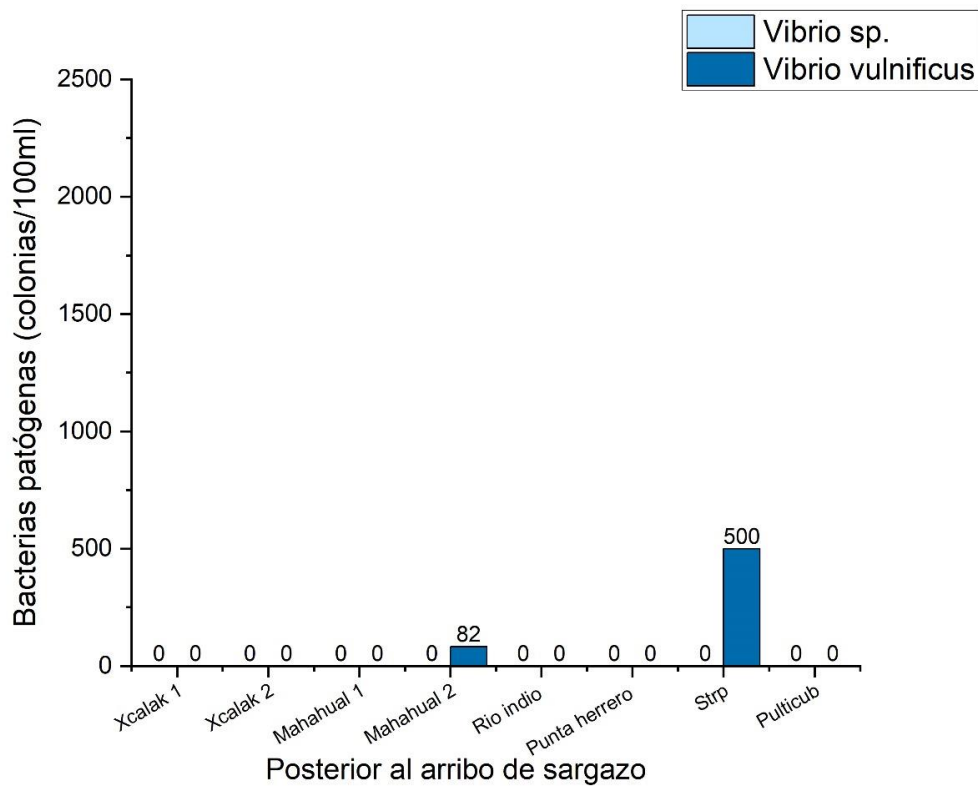


Figura 5. Composición y abundancia de *Vibrio sp.* en la temporada posterior del arribo de sargazo.

La prueba ANOSIM determinó que existen diferencias significativas entre la abundancia de *V. vulnificus* entre fases del arribo de sargazo ($p=0.0001$). Las comparaciones pareadas sugieren que hubo mayor abundancia en las temporadas inicio y durante y una menor abundancia en la temporada después.

Tabla 3. Comparaciones pareadas entre las diferentes temporadas inferido mediante un análisis de ANOSIM por el modelo de Bray-Curtis

Temporada	Inicio	Durante	Después
Inicio		0.0495	0.0001
Durante	0.0495		0.0001
Después	0.0001	0.0001	

El Análisis de Componentes Principales en los dos primeros componentes explicó el 65% de la variabilidad de los datos. La temporada “Inicio” mostró una correlación positiva con la presencia de *Vibrio sp*, y las variables que más influyeron para esta temporada son el pH y oxígeno disuelto. La conductividad y salinidad mostraron una correlación negativa con esta temporada. Las temporadas “durante” y “después” se agruparon en el gráfico, sugiriendo una respuesta similar a la presencia de bacterias patógenas y variables ambientales. Se observó una correlación positiva con *V. vulnificus* con las variables oxígeno disuelto, temperatura y pH. La temporada “después” además, tuvo una correlación positiva con conductividad y salinidad.

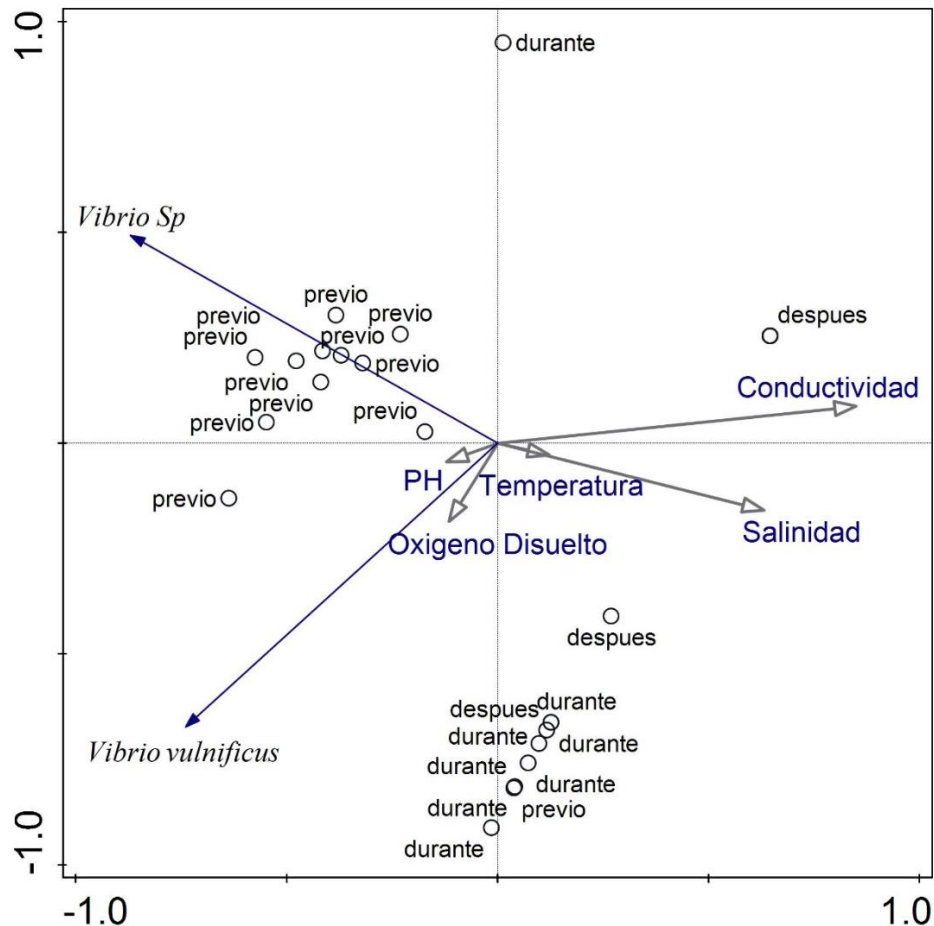


Figura 6. Análisis de Componentes Principales mostrando la influencia de las variables ambientales pH, conductividad, temperatura, salinidad, oxígeno disuelto y bacterias patógenas sobre los periodos de arribazón.

7.1 Distribución espacial de bacterias patógenas

El mapa de interpolación sugiere una distribución relativamente homogénea de *V. vulnificus* en el área de estudio. Se detectaron, sin embargo, zonas de mayor concentración en el norte y zona sur del área de estudio (figura 8). Estas zonas coinciden con las poblaciones de Punta Herrero e Xcalak. En estas zonas la concentración de bacterias incremento a >1000 colonias de *V. vulnificus* por cada 100ml de agua marina. Esto representa un alto riesgo de infección para las personas que tiene contacto con el agua.

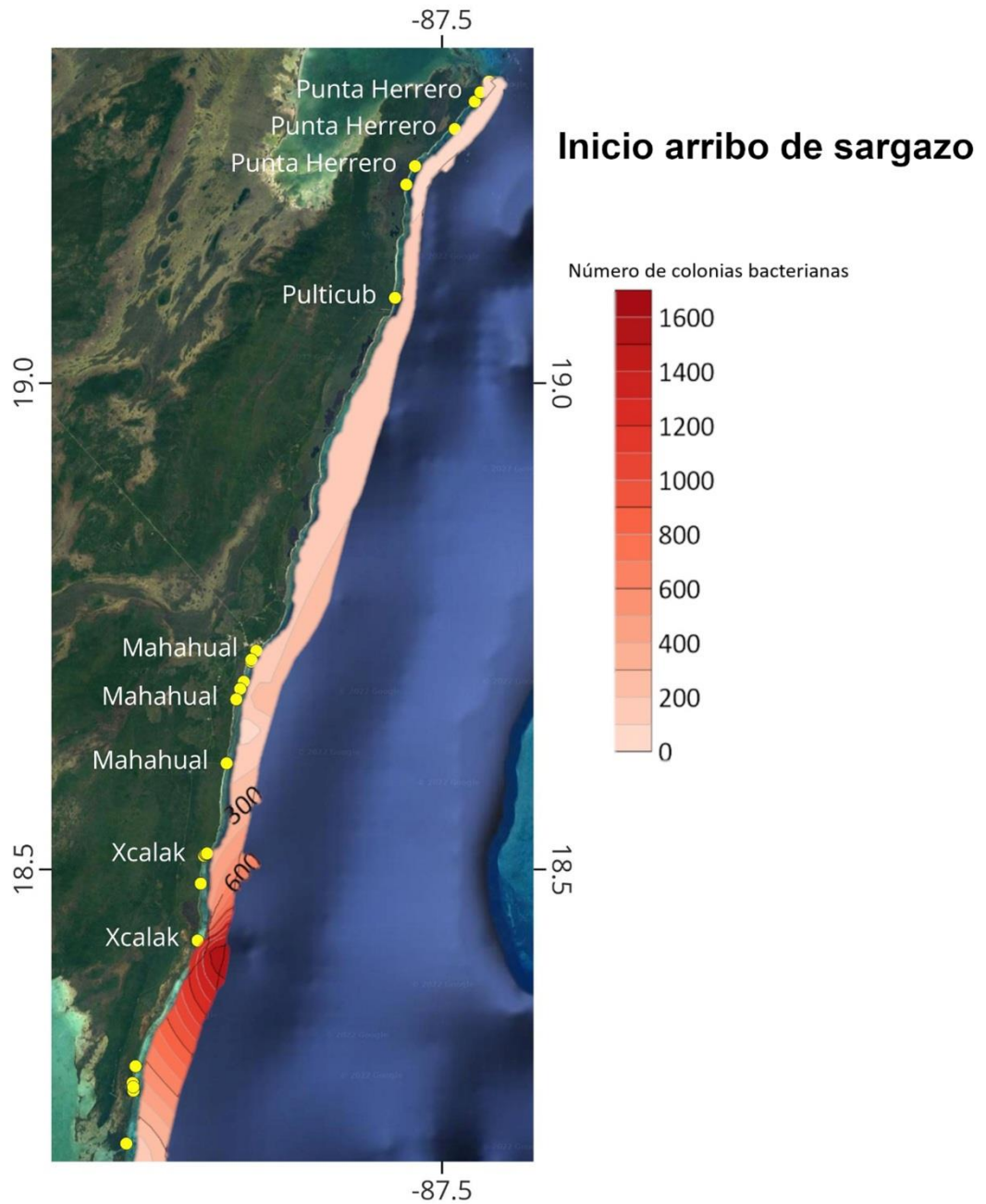


Figura 7. Mapa interpolado de la distribución relativa de *Vibrio vulnificus* en el sur del Caribe Mexicano para el periodo inicio (software Surfer Golden, algoritmo de interpolación Kriging).

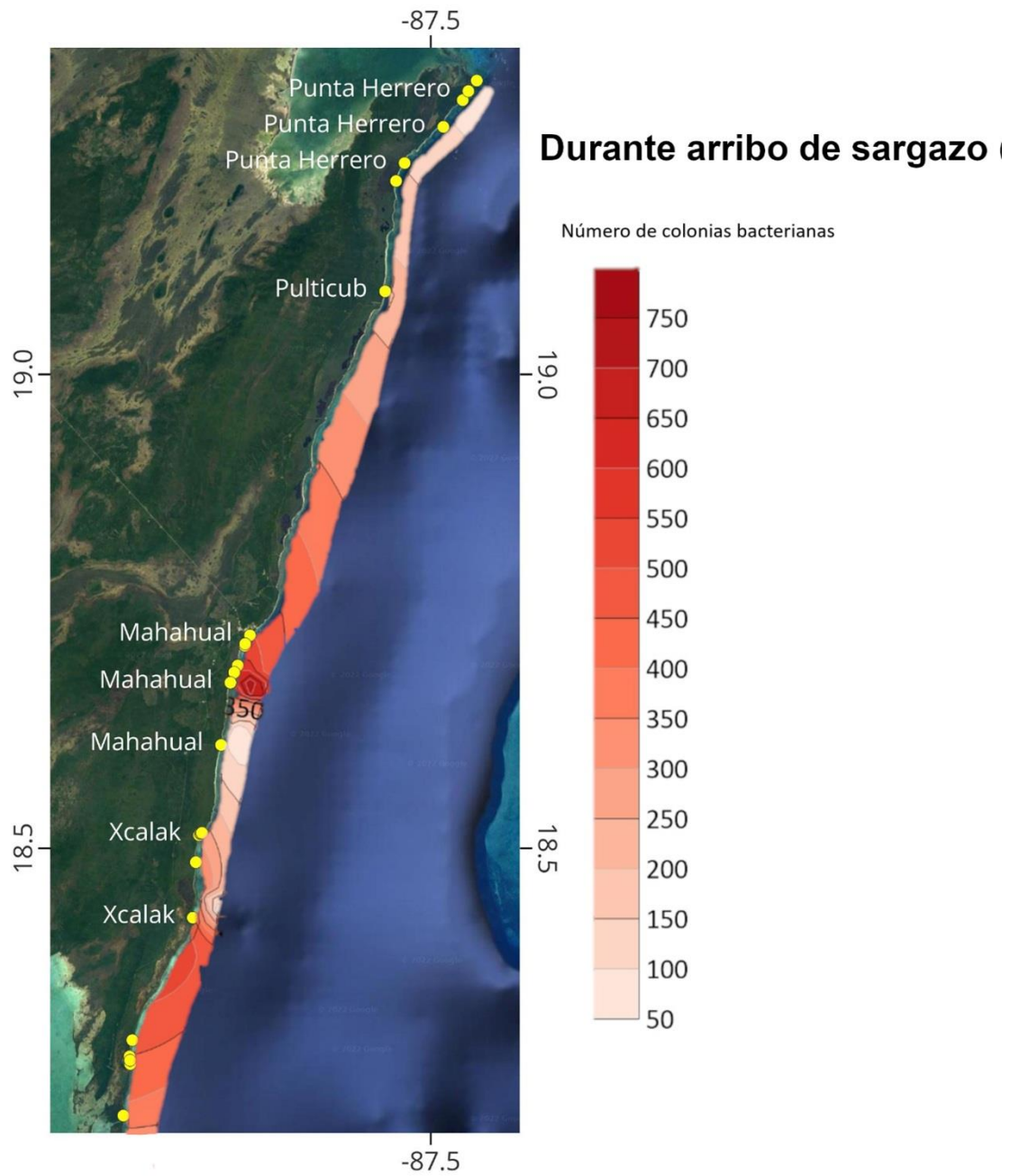


Figura 8. Mapa interpolado de la distribución relativa de *Vibrio vulnificus* en el sur del Caribe Mexicano para el periodo durante (software Surfer Golden, algoritmo de interpolación Kriging).

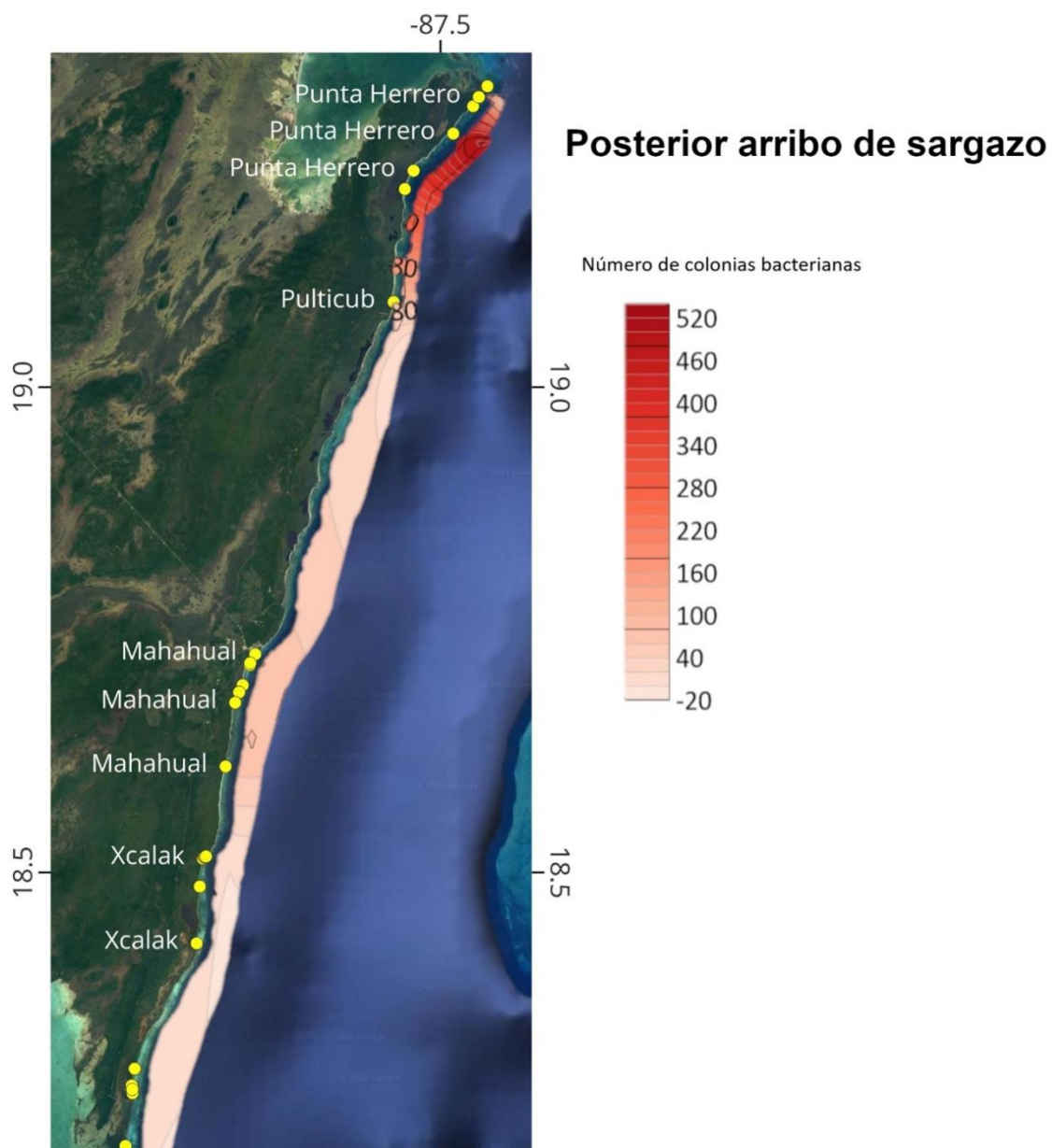


Figura 9. Mapa interpolado de la distribución relativa de *Vibrio vulnificus* en el sur del Caribe Mexicano para el periodo posterior (software Surfer Golden, algoritmo de interpolación Kriging).

7.2 Pruebas moleculares

Los resultados de las amplificaciones realizadas en 15 muestras con los primers vvh-785 y vvh-1302 evidencian la presencia de *V. vulnificus* en el 90% de las muestras analizadas. La escalera fue de 517 pares de bases aproximadamente. La determinación del tipo de cepa con las sondas P1 y P3, que corresponden a cepas clínicas, mostraron 11 muestras positivas, lo que sugiere que el 70% de la composición bacteriana pertenecen a la variedad clínica. Las amplificaciones realizadas con las sondas P2 y P3 revelaron una única muestra positiva para la variedad ambiental. Las 3 muestras restantes no presentaron resultados positivos en ninguna de las amplificaciones, lo que sugiere que podrían ser variantes genéticas de las bacterias.

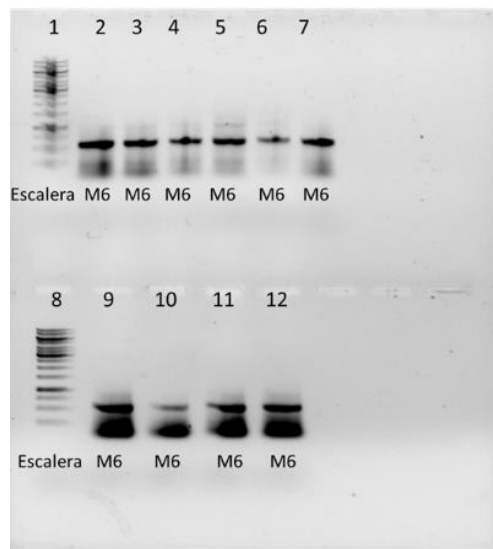


Figura 10. Prueba de amplificación para la estandarización de temperatura y concentración utilizando la muestra 6 en cada pozo con los primers vvh-785 y vvh-1302.

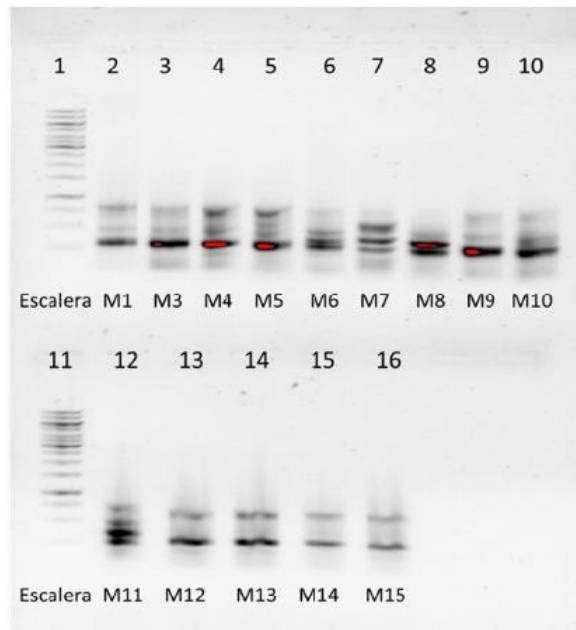


Figura 11. Amplificación de todas las muestras de ADN genómico, con una temperatura optima de 65.9°C y una concentración de 10ng/ μ .

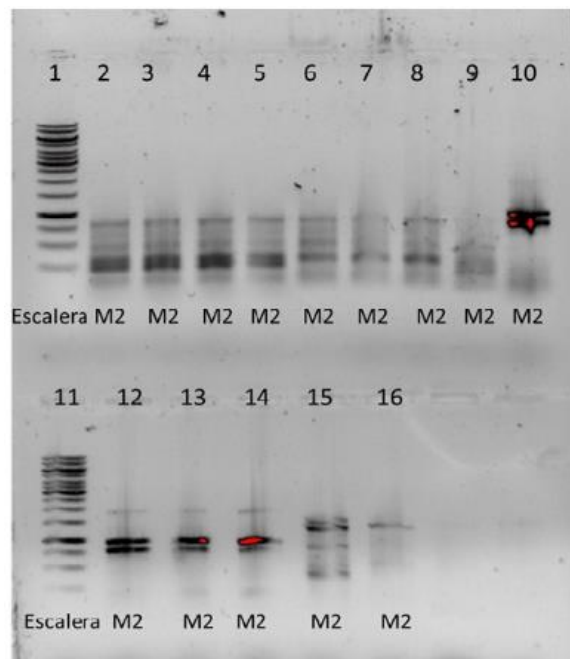


Figura 12. Estandarización de temperatura De alineación con las sondas P1, P2, P3 para el ADN templado y el ADN genómico. En todos los pozos se encuentra la muestra 2.

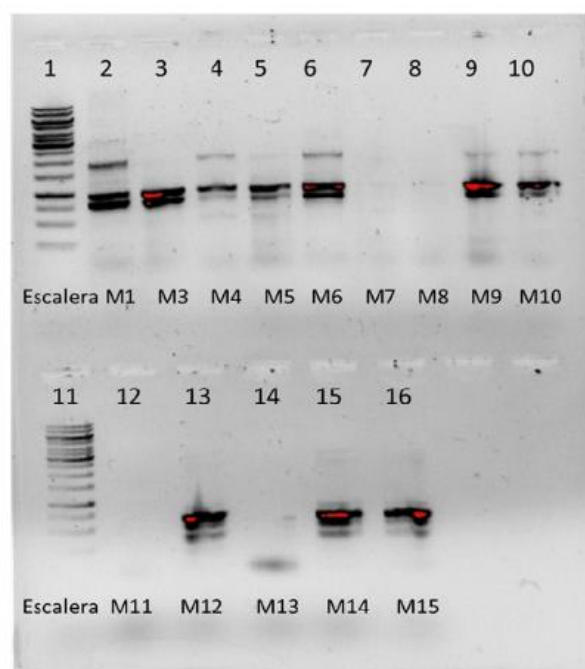


Figura 13. Amplificación del DNA genómico con las sondas P1 y P3. Las muestras 1,2,3,4,5,6,9,10,12,14 y 15 dieron positivas para cepas clínicas. Las muestras 7,8,11,13 no dieron positivo.

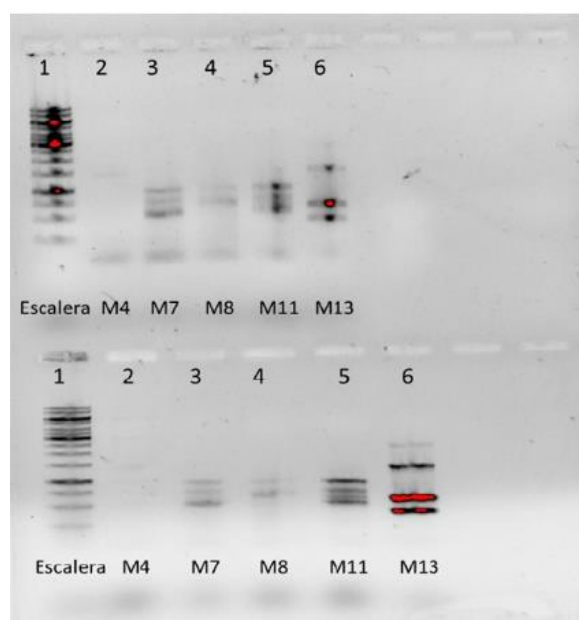


Figura 14. Amplificación para las cepas ambientales con las sondas P2 y P3. Únicamente la muestra 13 dio positivo para las cepas ambientales.

8. DISCUSIÓN

El periodo de arribo de sargazo durante el 2023 fue un año atípico, debido a que los arribazones de sargazo no siguieron las temporalidades de años previos. Durante el periodo de arribo de sargazo se observó poca presencia del alga, sin embargo, desde el mes anterior, ya se habían informado de eventos de arribo importantes, por lo que la temporada de este año, al parecer se adelantó y con ello el efecto ambiental del sargazo en la costa. Se detectó que las condiciones ambientales promedio de temperatura al periodo inicio del arribo fue de 37°C, mientras que de pH 7.8. Estos parámetros son cercanos a los óptimos para el crecimiento de especies de *Vibrio* (Louime et al., 2017). Por ejemplo, se encontró que *V. parahaemolyticus*, en condiciones de laboratorio demuestra condiciones óptimas de crecimiento en 25.67 ± 2 °C y un rango de pH de 7.96 ± 0.1 (Namadi & Deng, 2023). Esta especie generalmente se encuentra en ambientes similares a *V. vulnificus*. En la Bahía de Chesapeake durante el 2009 al 2012, se ha registrado que ambas especies crecen en temperaturas >25°C (Brumfield, Chen, et al., 2023). En Carolina del Sur, también se ha detectado que la temperatura de crecimiento óptimo de *V. vulnificus* es >33°C (Deeb et al., 2018). Por lo que las condiciones pudieron ser relevantes para la alta abundancia de *V. vulnificus* durante este periodo. Es importante mencionar que no solo la temperatura y pH son determinantes para la presencia de especies de *Vibrio* en regiones tropicales, para *V. alginolyticus*, *V. brasiliensis*, *V. caribbeanicus*, *V. hepatarius*, *V. splendidus* y *V. thalassae*, se encontró que factores como los sólidos suspendidos, y nutrientes orgánicos disueltos, son críticos para la presencia y abundancia de las especies (Wong et al., 2024).

Comparativamente, en la temporada de ausencia de sargazo las condiciones fueron distintas, hubo una disminución de temperatura, hasta los 30°C. Esto puede estar relacionado con el cambio de estación del año y temporada climática. El periodo de ausencia de sargazo coincidió con el otoño, donde las temperaturas disminuyen. Se tiene conocimiento de que los regímenes locales del viento también juegan como un factor decisivo para la llega del sargazo a las costas del Caribe Mexicano, ya que los vientos alisios del sureste traen al sargazo a la costa en primavera – verano y los vientos dominantes en el norte evitan el transporte durante la temporada otoño – invierno (García-Sánchez et al., 2020). Por ejemplo, un estudio de Zúñiga Carrasco y Caro Lozano mencionan que hay evidencia de que la especie *V. vulnificus* ha sido aislada de las costas

del Golfo de México, teniendo mayores concentraciones en verano donde hay meses con más calor. Se observan altos niveles de concentración de bacterias cuando la temperatura oscila entre los 17 y 31°C y con una salinidad entre el 15 y 25%. Por lo que *V. vulnificus* ha sido implicado en infecciones de humanos durante los meses de verano (Carrasco & Lozano, 2014).

En la temporada inicio se obtuvo el mayor número de bacterias con un total de 29,380 bacterias, de las cuales 11,775 fueron del morfotipo 1 (amarillas) y 17,605 del morfotipo 2 (verdes). En el periodo durante del arribo hubo un total de 25,703 bacterias teniendo 1,050 bacterias del morfotipo 1 y una mayoría del morfotipo 2 con un total de 24,653, una cifra mayor que al inicio de la temporada, estas dos temporadas tuvieron una gran abundancia de bacterias en comparación con la temporada de ausencia donde únicamente fueron 588 bacterias y todas fueron del morfotipo 2 y ninguna para el morfotipo 1 por lo que se observa una diferencia significativa. Esto puede ser debido a que cuando las grandes cantidades de sargazo se acumulan en las costas, hay una mayor segregación de lixiviados que son ricos en materia orgánica disuelta y esto podría ser aprovechado por *V. vulnificus*. En la Bahía de Narragansett, RI, EE. UU, se realizó un estudio donde se examinó la presencia y abundancia de *Vibrio* spp. en siete géneros de macroalgas. Utilizando recuentos de unidades formadoras de colonias (UFC) y qPCR multiplex, cuantificaron la abundancia de *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus*. Se determinó que la presencia de nutrientes, particularmente nitrógeno tiene influencia sobre *Vibrio* spp. Esto pudo ser a que las bacterias responden a la afluencia de nitrógeno como estimulante para su crecimiento y metabolismo (Geisser et al., 2025).

Las grandes acumulaciones de esta macroalga también se deben a ciertos factores como, que tan dinámica es la energía del oleaje o la geomorfología del lugar (García-Sánchez et al., 2020). Los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de Florida, también han alertado que la bacteria *V. vulnificus* está presente en las aguas del Golfo de México y el Caribe Mexicano.

El análisis estadístico mediante ANOSIM indicó diferencias significativas ($p=0.0001$) en la abundancia de *V. vulnificus* entre las distintas fases del arribo, siendo más notoria durante las temporadas de inicio y máximo arribo, y disminuyendo notablemente en la fase posterior. Esta variabilidad estacional parece estar fuertemente influenciada por las condiciones fisicoquímicas del entorno, como lo muestra el Análisis de Componentes Principales, en el que el 65% de la variabilidad de los datos fue explicada por los dos

primeros componentes. Las variables oxígeno disuelto, pH y temperatura mostraron una correlación positiva con la presencia de *V. vulnificus*, particularmente en las temporadas de mayor abundancia, mientras que la salinidad y conductividad se asociaron más con la fase posterior al arribo. En un estudio realizado en las costas de Guaymas, Sonora, mediante un Análisis de Componentes principales, se encontró que *V. parahaemolyticus* fue la bacteria con mayor distribución y más abundante, seguida de *V. vulnificus*, *V. mimicus* y *V. cholerae*. *Vibrio parahaemolyticus*, *V. vulnificus* y *V. mimicus*, tuvieron una correlación positiva con la temperatura, salinidad, conductividad eléctrica, y sólidos disueltos totales. *Vibrio cholerae* no tuvo correlación porque se vio afectada por el sitio de muestreo y no por los parámetros fisicoquímicos (León Robles et al., 2013).

Los resultados obtenidos mediante el análisis espacial representados en los mapas de interpolación muestran una distribución relativamente homogénea de *Vibrio vulnificus* en el área del estudio. Sin embargo, se identificaron zonas con mayor concentración específicamente en Punta Herrero y Xcalak. Se cree que hubo mayor concentración de bacterias en las dos zonas anteriormente mencionadas debido a la acumulación de sargazo, ya que al no tener tanta actividad turística no se remueve constantemente a como lo hacen en la zona de Mahahual, donde hay mayor actividad, pero eso no quiere decir que sea menos perjudicial. En estas áreas la concentración superó las 1,000 colonias por cada 100ml de agua marina, lo que representa un nivel de riesgo muy alto para las personas expuestas. Un estudio realizado por DePaola et al. (2003) en las costas del Golfo de México encontró concentraciones elevadas de *V. vulnificus* en zonas con temperaturas cálidas y alta salinidad. De manera similar, en dicho estudio se observó la presencia de la bacteria y que tendería a incrementarse en áreas con mayor influencia antropogénica y con condiciones ambientales propicias, lo que coincide con las características que se observaron en Punta Herrero y Xcalak (DePaola et al., 2003).

La identificación de 11 muestras positivas mediante las sondas P1 y P3 indica una alta carga de cepas clínicas, lo que podría reflejar una exposición significativa a este microorganismo, especialmente en regiones costeras o en contacto con aguas contaminadas, ya que la cepa clínica se asocia a la infección en humanos. Las cepas clínicas a diferencia de muchas cepas ambientales presentan una serie de genes de virulencia específicos que hacen que tengan una mayor capacidad patogénica. Un estudio en Veracruz durante marzo de 2002 a marzo de 2003, realizó un análisis microbiológico a 299 muestras para identificar la presencia de *V. vulnificus*, dando como resultado que el

31% (94 de 299) resultaron positivas para la presencia de *V. vulnificus* (Quiñones Ramírez, 2010). Todas las cepas identificadas correspondieron al biotipo 1, es decir, cepas clínicas y fueron detectadas en todos sus sitios de muestreo (Quiñones Ramírez, 2010). Las cepas clínicas muestran una mayor virulencia, entre los genes más conocidos esta precisamente el gen *vvhA* (*Vibrio vulnificus* hemolisina A) y el gen *vcgC* (virulence-correlated gene, alelo C), entre otros. La presencia de estos genes permite la diferenciación de cepas potencialmente patógenas de otras que residen de forma ambiental. La detección de una muestra positiva con las sondas P2 y P3 sugiere la existencia cepas ambientales que, aunque menos prevalentes, pueden tener implicaciones patogénicas considerables (Chatzidaki-Livanis et al., 2006).

Las cepas ambientales son más difíciles de aislar debido a que pueden entrar a un estado viable pero no cultivables bajo ciertas condiciones. Además, la falta de positividad en tres muestras sugiere la variabilidad en la prevalencia de *V. vulnificus*, lo que podría estar influenciado por factores ambientales, como la temperatura del agua y la salinidad, que afectan su distribución. Por ejemplo, en un estudio realizado por Guerrero y colaboradores en 2015, se realizó una tipificación molecular para *V. parahaemolyticus* y *Vibrio vulnificus* aislados en México. *V. parahaemolyticus* se realizó por la presencia del gen *tlh* y por el fragmento pR72H que han sido utilizados como marcadores moleculares especie específicos. Se detectó a *V. vulnificus* mediante la identificación del gen *vvhA* (Lizárraga-Partida 2015, 2015). Las colonias positivas para *vvhA* fueron utilizadas para la identificación del genotipo *vcgC* o *vcgE*, de acuerdo con lo descrito por Rosche et al. (2005).

9. CONCLUSIÓN

El presente estudio permitió evidenciar la presencia y distribución del patógeno *Vibrio vulnificus* en aguas marinas y sargazo flotante a lo largo de diferentes fases del arribo de sargazo en la región sur del Caribe mexicano. A través de la recolección de 84 muestras, se identificaron dos morfologías distintas del género *Vibrio*, representadas por colonias verdes y amarillas, lo cual sugiere una diversidad morfológica dentro de la comunidad bacteriana asociada al sargazo.

El análisis espacial mediante interpolación reveló una distribución heterogénea, con concentraciones elevadas de *V. vulnificus* (>1000 UFC/100 ml) localizadas en zonas específicas del área de estudio, especialmente en Punta Herrero y Xcalak, donde existe contacto directo y frecuente de la población con el medio marino. Esta concentración representa un riesgo importante para la salud humana, dado el potencial patogénico de esta bacteria en condiciones predisponentes.

Los análisis moleculares confirmaron la presencia de *V. vulnificus* en el 90% de las muestras analizadas mediante primers específicos (vvh-785 y vvh-1302). Además, las pruebas de tipificación con sondas específicas (P1 y P3) revelaron que el 70% de las muestras positivas podrían corresponder a cepas clínicas, lo que incrementa aún más el riesgo potencial de infección. La detección de una única muestra positiva con sondas P2 y P3, así como tres muestras sin amplificación detectable, sugiere la posible presencia de variantes genéticas de *Vibrio* no cubiertas por las sondas utilizadas.

En conjunto, los resultados de este trabajo ponen de manifiesto la relación directa entre el arribo masivo de sargazo y la proliferación de bacterias patógenas, particularmente *V. vulnificus*, cuya presencia podría representar una amenaza emergente para las comunidades costeras y visitantes de la región. Estos hallazgos subrayan la necesidad de establecer programas de monitoreo bacteriológico continuo, así como estrategias de gestión ambiental y sanitaria, especialmente en zonas de contacto frecuente con el mar, para prevenir posibles brotes de infecciones asociadas al sargazo y sus bacterias acompañantes.

10. FUENTES DE INFORMACIÓN

- Aliaga, R., Miranda, J., & Zevallos, J. (2010). Aislamiento e identificación de *Vibrio parahaemolyticus* O3: K6 en pescados y moluscos bivalvos procedentes de un mercado pesquero de Lima, Perú. *Revista Medica Herediana*, 21(3), 139-145.
- Álvarez-Filip, R. R.-N., Lorenzo. (2020, enero 14). El Caribe mexicano, una perspectiva ambiental. *Este País*. <https://estepais.com/impreso/el-caribe-mexicano-una-perspectiva-ambiental/>
- Arreola-Lizarraga, J., García Morales, G., León-López, C., & Ortega-Rubio, A. (2020). *Playas recreativas de México: Vulnerabilidad y gestión* (pp. 193-220).
- Bäumler, A. J., & Sperandio, V. (2016). Interactions between the microbiota and pathogenic bacteria in the gut. *Nature*, 535(7610), Article 7610. <https://doi.org/10.1038/nature18849>
- Becerra-Tapia, N., & Botello, A. V. (1996). Bacterias coliformes totales, fecales y patógenas en el sistema laguna Chantuto-Panzacola, Chiapas, México. *HIDROBIOLÓGICA*, 5(1, 2), Article 1, 2.
- Brumfield, K. D., Chen, A. J., Gangwar, M., Usmani, M., Hasan, N. A., Jutla, A. S., Huq, A., & Colwell, R. R. (2023). Environmental Factors Influencing Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 89(6), e00307-23. <https://doi.org/10.1128/aem.00307-23>
- Brumfield, K. D., Usmani, M., Santiago, S., Singh, K., Gangwar, M., Hasan, N. A., Netherland, M. J., Deliz, K., Angelini, C., Beatty, N. L., Huq, A., Jutla, A. S., & Colwell, R. R. (2023). *Genomic diversity of Vibrio spp. And metagenomic analysis of pathogens in Florida Gulf coastal waters following Hurricane Ian*. <http://hdl.handle.net/1903/32598>

- Caballero. (2020). *El sargazo, un fenómeno complejo*.
<https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/index.php/vol-71-numero-4/827-el-sargazoun-fenomeno-complejo>
- Carrasco, I. R. Z., & Lozano, J. C. (2014). *Una bacteria al acecho en las playas*.
- Chatzidaki-Livanis, M., Hubbard, M. A., Gordon, K., Harwood, V. J., & Wright, A. C. (2006). Genetic Distinctions among Clinical and Environmental Strains of *Vibrio vulnificus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(9), 6136-6141.
<https://doi.org/10.1128/AEM.00341-06>
- Deeb, R., Tufford, D., Scott, G. I., Moore, J. G., & Dow, K. (2018). Impact of Climate Change on *Vibrio vulnificus* Abundance and Exposure Risk. *Estuaries and Coasts*, 41(8), 2289-2303. <https://doi.org/10.1007/s12237-018-0424-5>
- DePaola, A., Nordstrom, J. L., Dalsgaard, A., Forslund, A., Oliver, J., Bates, T., Bourdage, K. L., & Gulig, P. A. (2003). Analysis of *Vibrio vulnificus* from Market Oysters and Septicemia Cases for Virulence Markers. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(7), 4006-4011.
<https://doi.org/10.1128/AEM.69.7.4006-4011.2003>
- Elisa, R., & van Tussenbroek. (2016). *Afluencia masiva de sargazo pelágico a la costa del Caribe Mexicano*. 15.
- Elisa, R., & van Tussenbroek, 2016. (s. f.). *Afluencia masiva de sargazo pelágico a la costa del Caribe Mexicano*.
- García Palomo, J. D., Agüero Balbín, J., Parra Blanco, J. A., & Santos Benito, M. F. (2010). Enfermedades infecciosas. Concepto. Clasificación. Aspectos generales y específicos de las infecciones. Criterios de sospecha de enfermedad infecciosa. Pruebas diagnósticas complementarias. Criterios de indicación. *Medicine -*

- Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 10(49), 3251-3264.
[https://doi.org/10.1016/S0304-5412\(10\)70027-5](https://doi.org/10.1016/S0304-5412(10)70027-5)
- García-Sánchez, M., Graham, C., Vera, E., Escalante-Mancera, E., Álvarez-Filip, L., & van Tussenbroek, B. I. (2020a). Cambios temporales en la composición y biomasa de especies de *sargazo* pelágico varado en el Caribe Mexicano. *Aquatic Botany*, 167, 103275. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2020.103275>
- García-Sánchez, M., Graham, C., Vera, E., Escalante-Mancera, E., Álvarez-Filip, L., & van Tussenbroek, B. I. (2020b). Temporal changes in the composition and biomass of beached pelagic *Sargassum* species in the Mexican Caribbean. *Aquatic Botany*, 167, 103275. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2020.103275>
- Geisser, A. H., Scro, A. K., Smolowitz, R., & Fulweiler, R. W. (2025). Macroalgae host pathogenic *Vibrio* spp. In a temperate estuary. *Frontiers in Marine Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmars.2025.1549732>
- Güemes-Ricalde, F. J., & Correa-Ruiz, N. J. (2009). *Behavior in the Foreign Tourist Market Mexican Caribbean (Comportamiento del Mercado Turístico Extranjero en el Caribe Mexicano) (Spanish)* (SSRN Scholarly Paper No. 1683524). Social Science Research Network. <https://papers.ssrn.com/abstract=1683524>
- Hervé, V., Lambourdière, J., René-Trouillefou, M., Devault, D. A., & Lopez, P. J. (2021). *Sargassum* Differentially Shapes the Microbiota Composition and Diversity at Coastal Tide Sites and Inland Storage Sites on Caribbean Islands. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.701155>
- INEGI. (s. f.). *Censo de Población y Vivienda 2020*. Recuperado 9 de abril de 2025, de <https://www.inegi.org.mx/programas/ccpv/2020/>
- Jones, M. K., & Oliver, J. D. (2009). *Vibrio vulnificus*: Disease and Pathogenesis. *Infection and Immunity*, 77(5), 1723-1733. <https://doi.org/10.1128/iai.01046-08>

- Kristian Stevik, T., Kari Aa, Ausland, G., & Fredrik Hanssen, J. (2004). Retention and removal of pathogenic bacteria in wastewater percolating through porous media: A review. *Water Research*, 38(6), 1355-1367.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2003.12.024>
- León Robles, A., Acedo Félix, E., Gomez-Gil, B., Quiñones Ramírez, E. I., Nevárez-Martínez, M., & Noriega-Orozco, L. (2013). Relationship of aquatic environmental factors with the abundance of *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio mimicus* and *Vibrio vulnificus* in the coastal area of Guaymas, Sonora, Mexico. *Journal of Water and Health*, 11(4), 700-712.
<https://doi.org/10.2166/wh.2013.160>
- Lizárraga-Partida 2015, D. M. L. (2015). *Carlos Abraham Guerrero Ruíz*.
- Lopez, P. J., Hervé, V., Lambourdière, J., René-Trouillefou, M., & Devault, D. (2020). *From the Sea to the Land: Dynamic of the Sargassum Tide Holobiont in the Caribbean Islands*. Research Square. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-33861/v1>
- Louime, C., Fortune, J., & Gervais, G. (2017). Sargassum Invasion of Coastal Environments: A Growing Concern. *American Journal of Environmental Sciences*, 13(1), 58-64. <https://doi.org/10.3844/ajessp.2017.58.64>
- Mecalco, S. G. D., & Encb, T. (2005). PATÓGENO OPORTUNISTA VIBRIO VULNIFICUS. *Revista Digital Universitaria*.
- Mei, X., Wu, C., Zhao, J., Yan, T., & Jiang, P. (2019). Community Structure of Bacteria Associated With Drifting *Sargassum horneri*, the Causative Species of Golden Tide in the Yellow Sea. *Frontiers in Microbiology*, 10.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01192>

- Mohan, P., & Strobl, E. (2024). Tourism and marine crises: The impact of *Sargassum* invasion on Caribbean small island developing states. *Ocean & Coastal Management*, 251, 107091. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2024.107091>
- Morales Omar. (s. f.). *Emitieron alerta por bacteria “devoradora de carne” en aguas del Golfo de México—Infobae*. Recuperado 2 de octubre de 2023, de <https://www.infobae.com/mexico/2023/09/05/emitieron-alerta-por-bacteria-devoradora-de-carne-en-aguas-del-golfo-de-mexico/>
- Namadi, P., & Deng, Z. (2023). Condiciones ambientales óptimas para controlar la prevalencia de *vibrio parahaemolyticus* en el medio marino. *Marine Environmental Research*, 183, 105828. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2022.105828>
- Oliver, J. D. (2006). *Vibrio vulnificus—The Biology of Vibrios—Wiley Online Library*. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1128/9781555815714.ch25>
- Ortegón-Aznar, I., & Ávila-Mosqueda, S. V. (2020). Arribazón de sargazo en la península de Yucatán: ¿Problema local, regional o mundial? *Bioagrobiencias*, 13(2). <https://doi.org/10.56369/BAC.3535>
- Oyesiku. (2024). (PDF) Identification and chemical studies of pelagic masses of *Sargassum natans* (Linnaeus) Gaillon and *S. fluitans* (Borgesen) Borgesen (brown algae), found offshore in Ondo State, Nigeria. *ResearchGate*. <https://doi.org/10.5897/AJB2013.12335>
- Pandey, P. K., Kass, P. H., Soupir, M. L., Biswas, S., & Singh, V. P. (2014). Contamination of water resources by pathogenic bacteria. *AMB Express*, 4(1), 51. <https://doi.org/10.1186/s13568-014-0051-x>
- Poblete U, R., Andresen H, M., Pérez C, C., Dougnac L, A., Díaz P, O., & Tomicic F, V. (2002). Septic shock caused by *Vibrio vulnificus*: Report of one case. *Revista*

médica de Chile, 130(7), 787-791. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872002000700011>

Quiñones Ramírez, E. I. (2010, septiembre 29). *Caracterización de cepas de Vibrio vulnificus aisladas de bivalvos y de la columna de agua en la Laguna de Pueblo Viejo, Veracruz, México*. Universidad Autónoma Metropolitana. <https://doi.org/10.24275/uami.4q77fr55n>

Rosche, T. M., Yano, Y., & Oliver, J. D. (2005). A rapid and simple PCR analysis indicates there are two subgroups of *Vibrio vulnificus* which correlate with clinical or environmental isolation. *Microbiology and Immunology*, 49(4), 381-389. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2005.tb03731.x>

Váradi, L., Luo, J. L., Hibbs, D. E., Perry, J. D., Anderson, R. J., Orenge, S., & Groundwater, P. W. (2017). Methods for the detection and identification of pathogenic bacteria: Past, present, and future. *Chemical Society Reviews*, 46(16), 4818-4832. <https://doi.org/10.1039/C6CS00693K>

WECAFC. (2023). *WECAFC - Nineteenth Session—Bridgetown, Barbados, 6-8 September 2023—Impacts of Sargassum on marine resources in the region and utilization of initiatives*.

Wong, Y. Y., Lee, C. W., Bong, C. W., Lim, J. H., Ng, C. C., Narayanan, K., Sim, E. U. H., & Wang, A. (2024). Environmental factors that regulate *Vibrio* spp. Abundance and community structure in tropical waters. *Anthropocene Coasts*, 7(1), 21. <https://doi.org/10.1007/s44218-024-00054-w>