

Resistencia *in-vitro* del *Vibrio cholerae* O1 a Nueve Antimicrobianos en la Provincia Constitucional del Callao. Abril - Junio 1998

JOSÉ MARÍA GUEVARA-GRANADOS, DORA GIRALDO, ELVIRA MEZARINA y NICOLÁS VELARDE
Servicio de Microbiología - Hospital Nacional Daniel A. Carrión. Callao - Perú.

RESUMEN

OBJETIVOS: Determinar los niveles actuales de resistencia *in vitro* del *Vibrio cholerae* a ciertos agentes antimicrobianos. **MATERIALES Y MÉTODOS:** Se estudió la resistencia *in vitro* por el método de disco-difusión en 225 cepas de *Vibrio cholerae* O1 aisladas a partir de coprocultivos tomados a pacientes del Hospital Daniel A. Carrión y otros establecimientos de salud del Callao, como parte de la Vigilancia Epidemiológica del Programa de Enfermedad Diarreica Aguda y Cólera. **RESULTADOS:** Se obtuvo una resistencia promedio total de 24,7% a Ampicilina, 18,7% a Tetraciclina, 8% a Cotrimoxazol, 7,5% a Cefalotina, 5% a Cloramfenicol, 2,25% a Furazolidona, 1% a Ácido Nalidíxico, 0,5% a Norfloxacin y no se observó resistencia a Ciprofloxacino. Se encontró además 17,3% de resistencia a 2 ó más antimicrobianos, siendo más frecuente la resistencia a 2 agentes. **CONCLUSIONES:** Observamos un porcentaje mayor de resistencia antimicrobiana del *Vibrio cholerae* O1 respecto a años anteriores, particularmente a Ampicilina y Tetraciclina. Las quinolonas continúan siendo una alternativa de tratamiento en casos particulares de resistencia.

Palabras claves: *Vibrio cholerae*; Cólera; Antibióticos; Resistencia a la Tetraciclina; Diarrea.

***In vitro* RESISTANCE OF *Vibrio cholerae* O1 AGAINST 9 ANTIMICROBIAL AGENTS IN CALLAO - PERU, APRIL - JUNE 1998**

SUMMARY

OBJECTIVE: To determine the current levels of *in vitro* resistance of *Vibrio cholerae* strains against different antimicrobial agents. **MATERIALS AND METHODS:** The *in vitro* resistance of 225 *Vibrio cholerae* strains isolated from stool cultures taken from patients at the "Hospital Nacional Daniel A. Carrión" and other health care centers of Callao, Peru, as part of the Epidemiologic Surveillance of the Acute Diarrheic Diseases and Cholera Programme, was assessed by disc-diffusion method. **RESULTS:** Resistance patterns obtained were the following: 24,7% to ampicillin, 18,7% to tetracyclin, 8% to cotrimoxazol, 7,5% to cephalotin, 5% to chloramphenicol, 2,25% to furazolidone, 1% to nalidixic acid, 0,5% to norfloxacin and no resistance was observed to ciprofloxacin. It was also found 17,3% of cases with resistance to 2 or more antimicrobial agents. **CONCLUSIONS:** Antimicrobial resistance patterns of *Vibrio cholerae* are increasing in last years. Quinolones are still good therapeutic options in particular resistance cases.

Key words: *Vibrio cholerae*; Cholera; Antibiotics; Tetracycline Resistance; Diarrhea.

Correspondencia:

Dr. José María Guevara Granados.
Departamento Académico de Microbiología Médica.
Facultad de Medicina - UNMSM.
Av. Grau 755, Lima J. Perú.
E-mail: josemaguevaragra@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

La Enfermedad Diarreica Aguda (EDA) puede ser causada por diferentes agentes etiológicos, entre los que se incluyen diversas bacterias. Con la llegada del *Vibrio cholerae* al Perú en el año 1991, esta bacteria se ha convertido en uno de sus principales agentes etiológicos.

Los Vibrios son bacterias que no adquieren resistencia a los antimicrobianos tan fácilmente como lo hacen las Enterobacterias. Desde 1991 se viene utilizando algunos antimicrobianos con el fin de interrumpir la cadena epidemiológica y la duración de la enfermedad, lo que podría motivar la aparición, aunque difícil, de patrones de resistencia a más agentes antimicrobianos de lo inicialmente considerado.

El presente trabajo se realizó con el objetivo de determinar la resistencia actual *in vitro* del *Vibrio cholerae* a ciertos agentes antimicrobianos, se ha realizado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Durante los meses de abril a junio de 1998 se realizó pruebas de sensibilidad antimicrobiana a las cepas aisladas de *Vibrio cholerae* O1 obtenidas a partir de coprocultivos e hisopados rectales provenientes del Sistema de Vigilancia del Programa de Enfermedad Diarreica Aguda y Cólera que provenían de diferentes Centros y Puestos de Salud del Callao; asimismo, se obtuvo muestras de pacientes atendidos en el servicio de Emergencia del Hospital Nacional Daniel A. Carrión.

Los hisopos y una pequeña fracción de heces fueron depositados en tubos que contenían agua peptonada alcalina, e incubados a 37°C por 6 horas, luego de lo cual fueron resembrados en el medio selectivo agar TCBS. Cuando se desarrollaban colonias amarillas, se procedió a hacer estudios de diferenciación bioquímica y confirmación serológica.

Las cepas confirmadas de *Vibrio cholerae* O1 se sometieron a la prueba del antibiograma por el método de disco-difusión estandarizado por Bauer, Kirby y col. a los siguientes antimicrobianos: Ampicilina (A), Tetraciclina (T), Cefalotina (Cf), Cloramfenicol (Clor), Cotrimoxazol (Cot), Furazolidona (Fur), Ácido Nalidíxico (Ac.Nal), Norfloxacin (Nor) y Ciprofloxacino (Cip).

En vista de que los resultados calificados de moderadamente sensibles, pueden en realidad ser sensibles (lo cual podría definirse determinando la mínima concentración inhibitoria), sólo consideramos los resultados que fueron clasificados como resistentes en la prueba de disco-difusión.

No todas las cepas fueron evaluadas con los nueve antibióticos al mismo tiempo, por algunos inconvenientes logísticos.

RESULTADOS

Durante los 3 meses que duró la recolección de muestras, se aislaron 225 cepas de *Vibrio cholerae* O1, todas fueron biotipo El Tor, serotipo Ogawa.

Los antimicrobianos para los que se encontró los niveles de resistencia más altos fueron Ampicilina (24,7%) y Tetraciclina (18,7%), mientras que los menores niveles de resistencia se observó entre las quinolonas, no hallándose cepas resistentes a Ciprofloxacino. En la Tabla N° 1 se aprecian los patrones de sensibilidad y resistencia a los diferentes antimicrobianos estudiados.

Tabla N° 1.- Resistencia *in vitro* de *Vibrio cholerae* O1 a 9 antimicrobianos.

Anti-biótico	Total	Sensible		Intermedio		Resistente	
		n	%	n	%	n	%
Cip	222	220	99,00	2	1,00	0	0,00
Nor	224	220	98,20	3	1,30	1	0,50
Ac.Nal	216	209	96,70	5	2,30	2	1,00
Fur	224	214	95,50	5	2,25	5	2,25
Cot	225	205	91,10	2	0,90	18	8,00
Clor	221	199	90,00	11	5,00	11	5,00
Cf	223	184	82,50	22	10,00	17	7,50
T	220	156	71,00	23	10,30	41	18,70
A	170	105	61,80	23	13,50	42	24,70

Cip = Ciprofloxacino, Nor = Norfloxacin, Ac.Nal = Ácido Nalidíxico, Fur = Furazolidona, Cot = Cotrimoxazol, Clor = Cloramfenicol, Cf = Cefalotina, T = Tetraciclina, A = Ampicilina.

De las 225 cepas, 39 (17,3%) tuvieron resistencia a 2 ó más antimicrobianos, siendo la más frecuente la de 2 antibióticos, tal como se muestra en la Tabla Nº 2.

Tabla Nº 2.- Patrones de resistencia de las cepas de *V. cholerae* a más de un antimicrobiano.

Patrón de Resistencia	Cepas	
	n	%
A 2 antimicrobianos	29	74,6
A 3 antimicrobianos	7	17,9
A 4 antimicrobianos	1	2,5
A 5 antimicrobianos	1	2,5
A 6 antimicrobianos	1	2,5
Total	39	100,0

Entre las cepas que presentaban un patrón de resistencia a 2 antimicrobianos, las combinaciones más frecuentes fueron: Cotrimoxazol + Tetraciclina: 34,4% y Ampicilina + Cefalotina 24,2% (Tabla Nº 3).

Tabla Nº 3.- Tipos de patrón de resistencia del *V. cholerae* O1 a 2 antimicrobianos.

Patrón de Resistencia	Cepas resistentes	
	n	%
Cot + T	10	34,4
A + Cf	7	24,2
Clor + T	5	17,2
A + T	4	13,7
Cf + T	1	3,53
Fur + T	1	3,53
Cf + Fur	1	3,53
Total	29	100,0

Cot = Cotrimoxazol, T = Tetraciclina, A = Ampicilina, Cf = Cefalotina, Clor = Cloramfenicol, Fur = Furazolidona.

El patrón de resistencia más frecuente a 3 antimicrobianos fue Cotrimoxazol + Cloramfenicol + Tetraciclina. Asimismo, hubo una cepa resistente a 4 antimicrobianos, una cepa a 5 antimicrobianos y una cepa a 6 antimicrobianos a la vez (Tabla Nº 4).

Tabla Nº 4.- Tipos de patrón de resistencia del *V. cholerae* O1 a 3 ó más antimicrobianos.

Patrón de Resistencia	Cepas resistentes	
	n	%
Cot + Clor + T	4	40
A + Cf + T	2	20
Cf + Clor + T	1	10
A + Cf + Fur + T	1	10
A + Cf + T + Cot + Ac. Nal	1	10
A + Cf + Fur + T + Cot + Clor	1	10
Total	10	100

Cot = Cotrimoxazol, Clor = Cloramfenicol, T = Tetraciclina, A = Ampicilina, Cf = Cefalotina, Fur = Furazolidona, Ac.Nal = Ácido Nalidíxico.

DISCUSIÓN

Perú es un país donde el cólera se ha hecho endémico; tenemos 7 años de convivencia con el *Vibrio cholerae* y tal vez dentro de un tiempo veamos el carácter endémico apreciado en otros países como en Bangladesh, donde el 80% de cepas aisladas en 1992 fue resistente a Cotrimoxazol y Tetraciclina y el 100% lo fue a Ampicilina, por lo que ahora el tratamiento lo realizan con Eritromicina (1). En la India se apreció un aumento en la resistencia al Cotrimoxazol que llegó al 81,5% y la mayoría de cepas fue también resistente a Tetraciclina (2).

En los antibiogramas de *Vibrio cholerae* que se realizaron en 1991, cuando recién llegó la epidemia, no se encontró ninguna resistencia, tal como se menciona en los trabajos publicados ese año por Guevara Duncan y col. (3). Recién en 1992 se reportó 1,2% de resistencia a Ampicilina (4). En otro trabajo de Guevara y col. en

1993, se reportó 8,4% de resistencia a Ampicilina, 3,3% para Tetraciclina, 3,0% para Cotrimoxazol, 0,6% para Furazolidona y ninguna para Norfloxacino (⁵).

Nosotros hemos encontrado que en estos años la resistencia ha aumentado en relación con reportes previos (³⁻⁵). No tenemos los altos valores de resistencia que se observan en otros países donde el cólera es endémico (¹), tal vez por el corto tiempo que éste está entre nosotros; pero ya está empezando a observarse resistencia. Del 17,3% de resistencia múltiple encontrado, el tipo más frecuente fue a 2 antimicrobianos, siendo Cotrimoxazol + Tetraciclina la asociación más frecuente, que es la misma asociación que se reportó en Bangladesh pero en un 80% (¹).

CONCLUSIONES

Observamos un incremento de la resistencia en relación a lo reportado en los últimos años, no sólo para un agente antimicrobiano determinado, sino también a múltiples agentes.

Los antimicrobianos para los que se encontró mayores niveles de resistencia fueron Ampicilina y Tetraciclina.

Las quinolonas siguen siendo una alternativa a considerar en casos particulares de resistencia.

Para no tener los problemas de resistencia que afrontan otros países en donde la enfermedad es endémica, aconsejamos enfatizar en el uso racional de antimicrobianos, a fin de no incrementar aún más el nivel de resistencia.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) **Seas C.** Cólera producido por *Vibrio cholerae* O:139 una visión de la epidemia desde Bangladesh. Bol Soc Per Enf Inf Trop 1994; 3(1-2): 23-6.
- 2) **Ramamurthy T, Pal A, Pal SC y Salakrish G.** Taxonomical implications of the emergence of high frequency of occurrence of 2,4-diamino-6,7-diisopropylpteridina-resistant strains of *Vibrio cholerae* from clinical cases of cholera in Calcutta, India. J Clin Microbiol 1992; 30(3): 742-3.
- 3) **Guevara JM, Reyes N, Valencia E, Marocho L, Ferrer A y Huaroto L.** Primeros aislamientos y antimicrobianos de *Vibrio cholerae* en el Perú. Rev Farmacol Terap (Lima) 1991; 1(1): 10-2.
- 4) **Tolmos J.** Susceptibilidad antimicrobiana *in vitro* de cepas de *Vibrio cholerae*. [Tesis de Bachiller] Lima: UPCH 1992.
- 5) **Guevara JM, Valencia E, Ticona E, Huaroto L, Valencia P y Torres D.** Resistencia *in vitro* del *Vibrio cholerae* O1 a seis antimicrobianos. Bol Soc Per Med Int 1994; 7(4): 147-8.