

ESTUDIO PRELIMINAR DE LA RESISTENCIA DE *Vibrio cholerae* O1, BROTE EPIDÉMICO 1998, A ANTIMICROBIANOS

PRELIMINARY SURVEY FROM THE ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF *Vibrio cholerae* O1, EPIDEMIC OUTBREAK 1998

J. O. Ibarra¹, L. E. Flores², R. H. García² y D. E. Alvarado²

ABSTRACT

Thirty strains of *V. cholerae* O1 Ogawa and 2 Inaba, isolated during the outbreak of 1998, were studied in relation to their sensibility in front of 10 antibiotics of clinical use. Nine strains were determined (28.1%) resistant to 1 up to 6 antibiotics. The SDS-PAGE of the studied strains exhibited similar pattern of bands.

La presencia de *Vibrio cholerae* O1 en el Perú tiene características endémicas, y la ocurrencia de la bacteria en nuestro medio obedece a factores ambientales, por lo que durante el Evento El Niño Oscilación Sur (ENOS) 1997-98 se incrementaron los casos de cólera (Colwell *et al.*, 1998; Ibarra *et al.*, 1999). Generalmente, *V. cholerae* O1 es sensible a los antimicrobianos utilizados en el tratamiento (Gotuzzo *et al.*, 1994), pero se reporta su resistencia a partir de los años 70. En el Perú se han realizado estudios relacionados a la resistencia de la bacteria a antibióticos (Seto *et al.*, 1992; Seas y Gotuzzo 1999), así como al compuesto vibriostático O/129 (Ibarra y Alvarado 1999).

El presente trabajo tiene por objetivo estudiar la evolución de la resistencia de cepas de *V. cholerae* O1 aisladas en los meses de verano de 1998, frente a antibióticos de uso clínico.

Se estudiaron 32 estirpes de *V. cholerae* O1, de las cuales 30 eran Ogawa y 2 Inaba, todas

aisladas entre enero y marzo de 1998 y pertenecientes a la colección del Lab. de Microbiología Molecular de la Fac. de Ciencias Biológicas, UNMSM (Ibarra *et al.*, 1999).

Se utilizó el método de Bauer y col. (Bauer *et al.*, 1966). Se emplearon discos comerciales de Ampicilina (A)(10 µg), Cloramfenicol (C)(30 µg), Sulfatrimetoprim (Sx)(25 µg), Tetraciclina (T) (30 µg), Estreptomina (S) (10 µg), Ácido Nalidíxico (M)(30 µg), Furazolidone (Fz)(100 µg), Ciprofloxacina (Cip)(5 µg), Doxiciclina (Dxs)(30 µg) y Eritromicina (EM)(15 µg). Se midieron los halos de inhibición en milímetros y la interpretación se realizó según las normas establecidas por el NCCLS para *Enterobacteriaceae* (NCCLS 1992).

Los aislados fueron cultivados en 10 mL de Caldo Triptosa por 18 h. Luego se centrifugaron a 4500 rpm por 15 min suspendiéndose el sedimento en 1 mL de agua bidestilada. Se mezcló 100 µL del cultivo con buffer de carga y se calentó en baño María por 10 min. Las mezclas fueron sometidas a electroforesis en Gel de Poliacrilamida (SDS-PAGE) usando geles de

1 Fac. Ciencias Naturales y Matemáticas. UNFV
2 Lab. Microbiología Molecular, Fac. de C. C. B. B., UNMSM. Apdo. /20, Lima 5.
E-mail: joi71@hotmail.com

12%. Como marcador de corrida se utilizó una proteína de amplio rango SIGMA (C3437) (Bollag y Edelstein 1991). Los pesos moleculares de las proteínas se determinaron graficando en papel semilogarítmico las distancias de migración frente a los pesos moleculares de la proteína marcadora (Walker, 1984).

La resistencia a agentes antimicrobianos exhibida por las cepas de *V. cholerae* O1 estudia-

das se muestra en la Tabla 1. Los antibióticos frente a los cuales la bacteria muestra mayor resistencia fueron T, Sx y S (12,5%), lo cual indica una diferencia con respecto a lo reportado en 1991, donde se determinó la sensibilidad de *V. cholerae* O1 El Tor Inaba a la mayoría de antibióticos de uso farmacéutico (Tolmos, 1992). Se encontraron 4 cepas multirresistentes, destacando un aislado que presentó resistencia a T S

Tabla 1. Antibiograma de 32 cepas de *Vibrio cholerae* O1 aisladas de muestras clínicas durante el brote epidémico. Lima, 1998

| Antibiótico | Sensibilidad | | Intermedio | | Resistente | |
|------------------|--------------|-------|------------|------|------------|------|
| | N | % | N | % | N | % |
| Tetraciclina | 28 | 87,5 | 0 | 0,0 | 4 | 12,5 |
| Cloramfenicol | 28 | 87,5 | 2 | 6,2 | 2 | 6,5 |
| Sulfatrimetoprim | 28 | 87,5 | 0 | 0,0 | 4 | 12,5 |
| Ampicilina | 21 | 65,6 | 10 | 31,3 | 1 | 3,1 |
| Estreptomina | 14 | 43,7 | 14 | 43,7 | 4 | 12,5 |
| Ácido Nalidixico | 25 | 78,1 | 5 | 15,6 | 2 | 6,2 |
| Furazolidone | 6 | 18,8 | 23 | 71,8 | 3 | 9,4 |
| Ciprofloxacina | 32 | 100,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 |
| Doxiciclina | 32 | 100,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 |
| Eritromicina | 5 | 15,6 | 25 | 78,1 | 2 | 6,2 |

Tabla 2. Espectros de resistencia a antibióticos de uso comercial producidas por estirpes de *Vibrio cholerae* O1 aisladas de muestras clínicas. Lima, 1998

| Antibiotipo | Espectro de resistencia a antibióticos (*) | Aislados Clínicos | Resistencia (%) |
|-------------|--|-------------------|-----------------|
| 1 | TSCSxMFz | 1 | 3,1 |
| 2 | TSCSx | 1 | 3,1 |
| 3 | TSSx | 2 | 6,3 |
| 4 | MFz | 1 | 3,1 |
| 5 | A | 1 | 3,1 |
| 6 | Fz | 1 | 3,1 |
| 7 | EM | 2 | 6,3 |

*T = Tetraciclina (30); C = Cloramfenicol (30); Sx = Sulfatrimetoprim (25); S = Estreptomina (10); A = Ampicilina (10); M = Ácido Nalidixico (30); Fz = Furazolidone (100); E = Eritromicina (15)

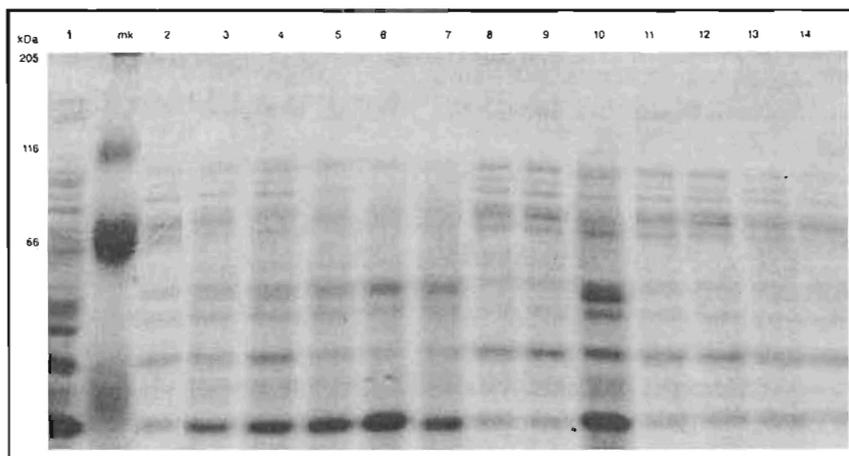


Figura 1. Perfiles proteicos de Aislados de *Vibrio cholerae* O1
mk = Marcador; 1-4 y 6-14 *V. cholerae* Ogawa; 5 *V. cholerae* Inaba;
Resistencia antimicrobiana: 4 TSCSxMFz, 11 EM, 12 TSSx, 13
TSSx, 14 A.

C Sx M y Fz (3,1%). Se hallaron 7 antibiogramas siendo los más frecuentes: TSSx y EM (6,3%) (Tabla 2). Estos resultados muestran claramente la necesidad de realizar evaluaciones periódicas del espectro antimicrobiano: los hallazgos coinciden con estudios realizados previamente en Italia y Albania (Falbo *et al.*, 1999).

Los perfiles proteicos de los diferentes aislados de *V. cholerae* O1 estudiados fueron similares y estuvieron en un rango de 45 a 104,8 kDa (Fig. 1). Las cepas Inaba y Ogawa presentaron el mismo patrón de bandas. Cabe destacar que las cepas con resistencia a los diferentes antimicrobianos utilizados presentaron perfiles proteicos similares en comparación a las que fueron sensibles. Debido a que los perfiles proteicos de las diferentes estirpes de *V. cholerae* O1 estudiadas presentaron un patrón homogéneo, no sería esta técnica una alternativa para el estudio de la evolución de este patógeno en relación a la resistencia a antimicrobianos y no brindaría información relevante que nos permita realizar un seguimiento periódico para la vigilancia de cepas resistentes.

Los espectros de resistencia/sensibilidad de los aislados de *V. cholerae* O1 del presente es-

tudio a compuestos antimicrobianos son diferentes a los de brotes epidémicos anteriores ocurridos en nuestro país, reportándose aislados clínicos multirresistentes en baja frecuencia. El estudio de los perfiles proteicos no proporciona información relevante con relación a la resistencia a diferentes antibióticos utilizados en el tratamiento del cólera.

LITERATURA CITADA

- Colwell, R.; Epstein, P.; Gubler, D.; Hall, M.; Reiter, P.; Shukla, J.; Sprigg, W.; Takajufi, E.; Trtanj, J. 1998. Global climate change and infectious diseases. *Emerg. Infect. Dis.* 4(1).
- Ibarra, J.; Delgado, A. y Alvarado, D. 1999. Vibrios no epidémicos y *Vibrio cholerae* O1 asociados a Enfermedad Diarreica Aguda Evento Climatológico "El Niño" 1998 - Hospital Dos de Mayo. *Rev. An. Fac. Med.* 60: 251-56.
- Gotuzzo, E.; Cieza, J.; Estremadoyro, L. and Seas, C. 1994. Cholera. Lessons from the Epidemic in Peru. In Isturiz & Gotuzzo (ed.). *Infectious Disease Clinics of North America*. pp. 183-205.

- Seto, W.; Lau, F.; Gotuzzo, E. & Carillo, C. 1992. Lomefloxacin versus Trimethoprim/sulfamethoxazole in the treatment of adults with acute bacterial diarrhea. *Inter. Jour. Antimicro. Agent* 2: 61-66.
- Seas, C. y Gotuzzo, E. 1999. *Vibrio cholerae* and other species. In Yu, V.; Merigan, T.; & Barriere, S (ed.). *Antimicrobial Therapy and Vaccines*. pp. 474-80.
- Ibarra, J. y Alvarado, D. 1999. Evaluación de la resistencia a 2,4-Diamino-6,7-Diisopropilpteridina en estirpes de *V. cholerae* aisladas durante el ENOS 98 de muestras clínicas y ambientales. Resúmenes Seminario-Taller Red sobre impacto biológico de los Eventos "El Niño", Lima-Perú.
- Bauer, A.; W. Kirby ; J. Sherris & M. Turck. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 45: 493-96.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1992. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 4th ed. Approved standard. NCCLS document M100-54.
- Bollag, D. & Edelstein, S. (eds) 1991. *Protein methods*. WILEY-LISS, New York, USA, 230 pp.
- Walker, J. 1984. *Methods in molecular biology*. Vol. 2. Nucleic Acids. The Human Press Inc. New Jersey.
- Tolmos, J. 1992. Susceptibilidad antimicrobiana in vitro de cepas de *Vibrio cholerae*. Tesis Bachiller UPCH Lima, Perú, 31 pp.
- Falbo, V.; Carattolli, A.; Tosini, F; Pezzella, C; Dionisi, A & Luzzi, I. 1999. Antibiotic Resistance Conferred by a Conjugative Plasmid and a Class I Integron in *Vibrio cholerae* O1 El Tor Strains Isolated in Albania and Italy. *Antim. Ag. Chemother.* 43: 693-96.