

Detección de portadores de *Vibrio cholerae* convalecientes mediante el enterotest

Pablo Grados¹ y Carlos Battilana²

Aunque se ha postulado la posible existencia de portadores crónicos de *Vibrio cholerae*, la información al respecto es escasa y contradictoria. Con objeto de determinar la utilidad de la cuerda encapsulada (enterotest) para detectar *V. cholerae* en las secreciones duodenales de origen biliar (biliduodenales), se evaluó a 59 pacientes (30 hombres y 29 mujeres) mayores de 15 años con diagnóstico clínico y bacteriológico de cólera. Todos los pacientes, que fueron atendidos en el Hospital de Apoyo Departamental María Auxiliadora en Lima, Perú, fueron sometidos al mismo esquema de rehidratación y recibieron 2 g diarios de tetraciclina por 3 días. De 1 a 7 días después de terminado el tratamiento con antibióticos se realizaron las primeras pruebas de control: cultivo de secreciones biliduodenales mediante enterotest y coprocultivo mediante hisopado rectal. Ningún paciente tenía diarrea en el momento del primer control.

El cultivo de secreciones biliduodenales dio resultados positivos a *V. cholerae* en cinco pacientes (8,5%) (cuatro mujeres y un hombre) y el coprocultivo dio resultados negativos en todos los casos. Una semana después se repitieron las pruebas de control en cuatro de los cinco pacientes. Todos los cultivos de secreciones biliduodenales fueron negativos y solamente un coprocultivo fue positivo en esta etapa. La paciente en cuestión fue sometida a las mismas pruebas de control una semana más tarde y ambas fueron negativas. Concluimos que el enterotest puede ser un método simple, bien tolerado y de bajo costo para detectar portadores de *V. cholerae*.

El cólera es una enfermedad de gran potencial epidémico, aun en zonas de endemia (1, 2). Su presencia en el Perú a partir de enero de 1991 es la primera manifestación en el continente americano, específicamente en América del Sur, de la pandemia de cólera que comenzó en 1961 (3).

La epidemiología del cólera no se ha llegado a entender por completo, sobre todo en lo que se refiere a las causas que condicionan su aparición y desaparición periódicas (2). Aunque algunas publicaciones han postulado la posible existencia de portadores crónicos que actúan de reservorios potenciales de *Vibrio cholerae*, la información disponible es

contradictoria y variable y depende de la metodología empleada por el investigador (2, 4).

Se sabe que el biotipo El Tor de *V. cholerae* puede estar presente un tiempo prolongado en pacientes portadores y que el número de casos asintomáticos o subclínicos es mayor que el de pacientes infectados por el biotipo clásico (2). Después de la tercera semana de la enfermedad, 90% de los casos agudos de cólera ya no excretan vibriones en las heces (5, 6). Cuando *V. cholerae* queda secuestrado en la vesícula biliar o en el intestino delgado, el escaso número de bacterias presentes en el intestino grueso, donde el medio no favorece la proliferación, reduce aun más las posibilidades de detectar vibriones en el coprocultivo. Una mejor forma de detectarlos en este caso sería la intubación nasoduodenal (1, 7). Por otra parte, el papel de la bilis y de la vesícula biliar en la evolución de la enfermedad aún no se ha aclarado (7).

Al estudiar a 43 pacientes en el período postinfeccioso inmediato, Wallace et al. en-

¹ Hospital de Apoyo Departamental María Auxiliadora, Unidad de Tratamiento de Cólera, Lima, Perú.

² Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. Dirección postal: Instituto Peruano de Investigación Científica Aplicada - IPICA, Pasaje Sucre 179, Miraflores, Lima, Perú.

contraron que 5,7% eran portadores convalientes y concluyeron que *V. cholerae* puede alojarse en la vesícula biliar durante esta fase (7). Pierce et al. encontraron que de 81 pacientes convalientes, 3,7% eran portadores (8). En ambos estudios se usó una metodología complicada e incómoda para el paciente: intubación nasoduodenal con administración de sulfato de magnesio para acelerar el tránsito intestinal y de colestistoquinina endovenosa para estimular la vesícula biliar.

Desde su descripción original por Beal en 1970 (9), la técnica de la cuerda encapsulada, conocida por enterotest, ha constituido un método no invasor, simple, seguro y de bajo costo para obtener muestras de secreción biliduodenal (10, 11). La muestra se obtiene a través de una cuerda trenzada de poliéster que se encuentra enrollada en una cápsula de material gelatinoso. El paciente degluta la cápsula, que se disuelve en el duodeno y deja expuesto el extremo distal de la cuerda para que se impregne de secreciones biliduodenales. La muestra obtenida puede usarse para hacer exámenes directos, cultivos o ambos (8). Aunque la técnica se ha usado para el diagnóstico bacteriológico y parasitológico de diversos trastornos del intestino delgado proximal (10-15), hasta donde hemos podido determinar no hay publicaciones sobre el cultivo de secreciones biliduodenales obtenidas por enterotest para detectar la presencia de *V. cholerae*. En vista de la falta de datos al respecto, el presente trabajo tiene por objeto establecer el valor del enterotest como método de detección de *V. cholerae* en pacientes de cólera convalientes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Durante abril de 1992, la unidad de tratamiento de cólera del Hospital de Apoyo Departamental María Auxiliadora en Lima, Perú, atendió 219 casos de cólera confirmados bacteriológicamente. De ellos, se evaluó a 59 pacientes (30 hombres y 29 mujeres) mayores de 15 años que reunían los siguientes criterios de inclusión: 1) diarrea líquida pro-

fusa sin moco o sangre y de inicio brusco y curso rápido, independientemente del grado de deshidratación y 2) confirmación bacteriológica de cólera mediante el cultivo de heces frescas en la fase aguda. De la muestra se excluyó a mujeres embarazadas y a pacientes con antecedente de colecistectomía.

Cada paciente fue rehidratado por vía oral o parenteral, según su grado de deshidratación, y recibió 2 g diarios de tetraciclina por 3 días. Algunos pacientes recibieron los antibióticos en el hospital y otros de forma ambulatoria. En cada caso se registraron el tiempo de duración de la diarrea, la medida en que se había cumplido el tratamiento ambulatorio con antibióticos y cualquier antecedente de trastorno biliar o dispepsia con el consumo de alimentos grasos.

Se dejaron pasar de 1 a 7 días después de la última dosis de antibióticos antes de hacer las primeras pruebas de control para la detección de portadores. Estas consistieron en el cultivo de secreción biliduodenal por medio del enterotest y en el cultivo de heces obtenidas mediante hisopado rectal. Ninguno de los pacientes evaluados tenía diarrea cuando estas pruebas se efectuaron.

Las muestras de heces tomadas antes y después del tratamiento antibacteriano se trasladaron al laboratorio en el medio de transporte de Cary-Blair y la identificación de *V. cholerae* se llevó a cabo por los métodos convencionales de laboratorio (16). Se dieron por curados los pacientes cuyo primer coprocultivo de control fue negativo. A los casos con resultados positivos en el mismo se les cultivaron las secreciones biliduodenales y las heces (mediante hisopado rectal) una vez a la semana hasta lograr resultados negativos, procurando de este modo detectar a los pacientes que portaban *V. cholerae* en la bilis y en las heces.

Para el cultivo de secreción biliduodenal cada paciente deglutió en ayunas la cuerda encapsulada, que se retiró en condiciones estériles a las 4 horas. El extremo distal de la cuerda fue incubado en caldo peptonado durante 8 horas y se sembró en un medio compuesto de tiosulfato, citrato, bilis y sacarosa (TCBS) (16).

RESULTADOS

La edad promedio de los pacientes fue de 42,4 años y tuvo una amplitud de 15 a 82. Treinta pacientes (51%) fueron de sexo masculino y 29 (49%) de sexo femenino (cuadro 1). No todos acataron con exactitud el tratamiento con tetraciclina a razón de 2 g diarios durante 3 días. Cuarenta y dos pacientes (71,2%) lo tomaron los 3 días indicados, 13 (22%) lo tomaron por espacio de 4 días, dos (3,4%) lo prolongaron hasta 5 días y dos (3,4%) siguieron el tratamiento 2 días únicamente.

Se detectó *V. cholerae* por cultivo de secreciones biliduodenales en cinco pacientes (8,5%), pero todos los coprocultivos que se tomaron simultáneamente dieron resultados negativos. De los cinco pacientes con cultivo biliar positivo, cuatro eran de sexo femenino (80%) y uno de sexo masculino (20%). Tres de estos pacientes tenían de 23 a 29 años, uno tenía 40 años y el otro 80.

Los cinco pacientes habían tomado el tratamiento con antibióticos los 3 días indicados. En tres de los casos el control se hizo a las 48 horas de la última dosis de antibiótico, en uno al cuarto día y en el otro al sexto (cuadro 2). Cuatro de los cinco pacientes indicaron tener antecedentes de dispepsia al ingerir alimentos grasos.

El segundo control, que se llevó a cabo una semana después del primero, solo se efectuó en cuatro pacientes porque el quinto no asistió al seguimiento. Todos los cultivos de secreciones biliduodenales fueron negativos y uno de los coprocultivos realizados si-

multáneamente fue positivo. La paciente que tuvo este resultado fue sometida a un tercer control una semana más tarde y tanto el cultivo de secreción biliduodenal como el coprocultivo dieron resultados negativos.

DISCUSIÓN

Es posible identificar hasta tres tipos de portadores de *V. cholerae* según las características del paciente y la fase epidemiológica que atraviesa el área geográfica donde habita. Los portadores más comunes son los que permanecen asintomáticos durante un brote epidémico. Estas personas eliminan vibriones sin tener manifestaciones clínicas y pueden ser fácilmente identificadas mediante coprocultivo por hisopado rectal o al investigarse el contacto intradomiciliario con un caso índice. La presencia del vibrión suele persistir varios días. Para el biotipo El Tor, la condición de portador es la más común, ya que comprende 75% del espectro clínico (1, 17).

El portador convaleciente es aquella persona que sigue eliminando vibriones en las heces por un tiempo variable, incluso meses (8), después del cuadro agudo de diarrea. Se denomina portador sano o crónico asintomático a cualquiera de los dos anteriores cuando se eliminan vibriones durante períodos más largos, hasta un máximo de año y medio, en ausencia de un brote epidémico. La existencia de estos portadores, así como su calidad de reservorios o su contribución a la aparición de casos esporádicos, aún no se ha confirmado (4).

CUADRO 1. Distribución de pacientes de cólera convalecientes, por sexo y edad, en el Hospital de Apoyo Departamental María Auxiliadora. Lima, Perú, 1992

Edad (años)	Hombres		Mujeres		Total	
	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)
15-24	6	10,2	6	10,2	12	20,3
25-34	9	15,3	5	8,4	14	23,7
35-44	6	10,2	4	6,8	10	16,9
45-54	3	5,1	5	8,4	8	13,6
55-64	1	1,7	1	1,7	2	3,4
65-74	3	5,1	5	8,4	8	13,6
75-84	2	3,4	3	5,1	5	8,5
Total	30	51,0	29	49,0	59	100,0

CUADRO 2. Número de días después de terminado el tratamiento con antibióticos en que se llevó a cabo la primera prueba de control en pacientes de cólera del Hospital de Apoyo Departamental María Auxiliadora. Lima, Perú, 1992

Días	Pacientes		Cultivo biliar positivo	
	(No.)	(%)	(No.)	(%)
1	3	5,1	0	0,0
2	9	15,3	3	5,1
3	13	22,0	0	0,0
4	9	15,3	1	1,7
5	6	10,1	0	0,0
6	10	16,9	1	1,7
7	9	15,3	0	0,0
Total	59	100,0	5	8,5

Nuestro estudio se limitó a portadores convalecientes por haberse realizado en un período de epidemia y porque algunas referencias en la literatura permiten la comparación de resultados (5, 7, 8). Si se compara nuestra metodología con la utilizada por otros investigadores que han sometido a los pacientes a purgación e intubación nasoduodenal, el enterotest parece una prueba sencilla, de bajo costo y fácil de realizar. Además, ha permitido identificar un porcentaje más alto de portadores convalecientes (8,5%) que los otros métodos citados, como atestiguan los trabajos de Wallace (con 5,7%) y Pierce (con 3,7%) (5, 7).

Se han encontrado algunas diferencias importantes entre nuestros portadores convalecientes y los identificados por Wallace y Pierce. Si se combina la casuística de los dos estudios, el mayor número de casos con resultados positivos en las pruebas de control corresponde a pacientes que no tomaron antibióticos en la fase aguda, y hay una diferencia estadísticamente significativa entre estos pacientes y los que sí tomaron antibióticos. En cambio, en nuestra serie todos los casos convalecientes con resultados positivos habían tomado tetraciclina a razón de 2 g diarios por 3 días. Otra diferencia importante se relaciona con la edad. Los portadores identificados por los investigadores antedichos

fueron pacientes mayores de 50 años. En cambio, 60% de los nuestros fueron pacientes entre los 20 y 30 años de edad.

En el presente trabajo se plantea la posibilidad de que la vesícula biliar sea un reservorio de *V. cholerae* (7). No obstante, aún no se puede definir el verdadero papel de la vesícula, ya que una vez obtenido el primer resultado negativo en nuestras pruebas de control, no se realizaron pruebas posteriores para comprobar si los resultados a lo largo del tiempo permanecían negativos o no. En todo caso, de haberse detectado el vibrión en las secreciones biliduodenales, no hubiera sido fácil establecer si se trataba de un estado de portador por infección crónica de la vesícula biliar o si era una simple reinfección asintomática, más aún si se considera que el estudio se efectuó en un período de brote epidémico en que la reinfección era muy factible. Este fue el criterio aplicado al establecerse el séptimo día después de terminado el tratamiento antibacteriano como límite máximo para la primera prueba de control. La razón por la que Gangarosa, citado por Wallace (7), notificó en 1966 una frecuencia de resultados positivos de 21% podría ser que el margen de tiempo establecido para realizar las pruebas de control fue de hasta dos semanas.

Concluimos que el cultivo de secreciones biliduodenales obtenidas mediante el enterotest es una técnica adecuada para detectar la presencia de *V. cholerae* en pacientes convalecientes. Este hallazgo reviste gran importancia epidemiológica, ya que podría permitir la identificación de portadores, particularmente crónicos o sanos, en diferentes momentos de una epidemia. También podría servir para determinar el posible papel de la vesícula biliar como reservorio del vibrión.

REFERENCIAS

1. Greenough III WB. *Vibrio cholerae*. En: Mandell GL, Douglas RG, Bennett J, eds. *Principles and practice of infectious diseases*. New York: John Wiley and Sons, Inc.; 1985:1206-1218.
2. Rabbani GH. Cholera. *Clin Gastroenterol* 1986; 15:507-528.

3. World Health Organization. Cholera: the epidemic in Peru, part II. *Wkly Epidemiol Rec* 1991;66:65-70.
4. Miller CJ, Feachem RG, Drasar BS. Cholera epidemiology in developed and developing countries: new thoughts on transmission, seasonality, and control. *Lancet* 1985;i:261-263.
5. Christie AB. Cholera. En: Christie AB, ed. *Infectious diseases: epidemiology and clinical practice*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1980:125-153.
6. Sen R, Sen DK, Chakrabarty AN, Geosh A. Cholera carriers in a Calcutta slum. *Lancet* 1968;2(576):1012-1014.
7. Wallace CK, et al. Probable gallbladder infection in convalescent cholera patients. *Lancet* 1967;1:865-868.
8. Pierce NF, et al. Convalescent carriers of *Vibrio cholerae*: detection and detailed investigation. *Ann Intern Med* 1970;72:357-364.
9. Beal C, Viens P, Grant R, Hughes J. A new technique for sampling duodenal contents: demonstration of upper small bowel pathogens. *Am J Trop Med Hyg* 1970;19:349-352.
10. Benavente L, Gotuzzo HE, Guerra CJ. Nuevos métodos diagnósticos en fiebre tifoidea. *Diagnóstico* 1981;8:82-86.
11. Liebman WN, Rosenthal P. Evaluation of the string test in intestinal bacterial overgrowth. *Am J Dis Child* 1983;137:1177-1178.
12. Vidal NL, Yi CA, León BR. Microflora de la parte alta del intestino delgado en peruanos sanos. *Acta Gastroenterol Latinoam* 1983;13:163-169.
13. Vighi G, Schroeder J, Gallo C, Ortolan C. Enterotest and *Strongyloides stercoralis*. *Lancet* 1989;2(8655):156-157.
14. Huaroto SM, Osorio NM, Ayala EL. Investigación de *Strongyloides stercoralis* en jugo duodenal obtenido mediante el examen de "cuerda encapsulada" o Enterotest. *Rev Gastroenterol Peru*. 1990;10:107-110.
15. Guerra CJ. Giardiasis. *Diagnóstico* 1980;6:132-135.
16. Perú, Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud. *Manual de laboratorio: cólera*. Lima: Ministerio de Salud; 1991. (Serie de Normas Técnicas No. 2).
17. Khan AQ. Role of carriers in the intrafamilial spread of cholera. *Lancet* 1967;4:245-246.

ABSTRACT

Detection of Convalescent Carriers of *Vibrio cholerae* Using Enterotest

Although the existence of chronic carriers of *Vibrio cholerae* has been posited, the information in this regard is limited and contradictory. In order to determine the usefulness of the encapsulated string test (enterotest) for detecting *V. cholerae* in duodenal secretions of biliary origin (biliduodenal secretions), 59 patients (30 males and 29 females) over the age of 15 with clinically and bacteriologically diagnosed cholera were evaluated. All the patients, who were treated at the María Auxiliadora Departmental Hospital in Lima, Peru, were put on the same rehydration regimen and were given 2 g of tet-

racycline daily for 3 days. Between 24 h and 7 days after completion of the antibiotic treatment the first control tests were performed: culture of biliduodenal secretions obtained using enterotest and culture of feces obtained by rectal swab. No patient had diarrhea at the time of the first test.

The biliduodenal secretion cultures revealed the presence of *V. cholerae* in five patients (8.5%) (four females and one male), while the fecal culture yielded negative results in all cases. One week later the control test was repeated on four of the five patients. All the biliduodenal secretion cultures were negative and only one fecal culture was positive at this stage. The patient in question was subjected to the same control tests one week later and both were negative. It is concluded that enterotest can be a simple, well-tolerated, low-cost method for detecting *V. cholerae* carriers.