

El germen del cólera

JORGE OLARTE

Los primeros tiempos 1883-1959

El germen fue visto por primera vez al microscopio en evacuaciones de enfermos de cólera, por Pacini en 1854, en Italia¹, sin que se pudiera probar su relación con el padecimiento. Se trata de una bacteria en forma de bastoncillo ligeramente curvo, dotado de un flagelo polar que le confiere gran movilidad. En 1883 Robert Koch se trasladó a Egipto en una expedición que tuvo por objeto el estudio de una epidemia de cólera que afectaba aquel país, habiendo logrado el cultivo del microorganismo ahora conocido como *Vibrio cholerae* O1 (antes *Vibrio comma*)². Ante la ausencia de animales de laboratorio susceptibles a esta infección, que permitieran demostrar en forma inequívoca que se trataba en realidad del germen causante del padecimiento, dos prestigiosos investigadores, Metchnikoff y Pettenkoffer³, decidieron autoinocularse a fin de aclarar su patogenicidad. Metchnikoff y uno de sus ayudantes en el laboratorio ingirieron el cultivo sin que desarrollaran ningún padecimiento; un segundo ayudante desarrolló la enfermedad grave. Por entonces quedó la incógnita de qué determinaba esa variación en la virulencia de la bacteria, lo que llevó a Metchnikoff a pensar que era debida a cambios en la composición de la flora bacteriana del intestino. Ahora sabe-

Parte de este material fue presentado en la Sesión Extraordinaria de la Academia Nacional de Medicina del 26 de febrero de 1991 (Simposium sobre cólera).



El duque de Orleans visitando a los enfermos de cólera en el Hotel Dieu. Tony Johannot, Museo Carnavalet, París.

mos que una defensa fundamental del hombre contra esta infección es la acidez gástrica; si esta se neutraliza o disminuye por cualquier medio, como ocurre en la desnutrición, es más fácil que prenda en él la infección y desarrolle el padecimiento. La acidez normal deja de ser una protección cuando el inóculo o número de microorganismos que se ingiere es muy elevado. La dosis infecciosa mínima del cólera, determinada experimentalmente en el hombre, es muy alta (del orden de 10^{8-9} microorganismos)⁴; en contraste, la dosis mínima de otras infecciones también intestinales puede ser muy baja como sucede en las diarreas causa-

das por *Shigella*⁵, la fiebre tifoidea y otras salmonelosis^{6,7}. Esto explica la preferencia del cólera por poblaciones con ínfimas condiciones sanitarias e higiénicas, así como socioculturales, mal alimentadas, que estén expuestas a la ingestión de agua, alimentos y otras bebidas contaminados con las deyecciones de enfermos de cólera, aguas negras o portadores sanos del germen.

También en el cólera, al igual que en muchas otras infecciones, se observan fenómenos de defensa específica o protección inmunológica derivada de infecciones previas⁸. Sin que se conozca el fundamento científico, las personas

con grupo sanguíneo O están predispuestas a adquirir el padecimiento⁹.

El periodo de incubación de la enfermedad es corto pudiendo ser de unas pocas horas hasta un máximo de cinco días, al igual que su duración. La excreción del germen puede prolongarse por varios días o semanas⁴. (Figura 1.)

Nueva era del cólera (1959-1961)

Durante los primeros 75 años siguientes al descubrimiento del vibrio bien poco se avanzó en el conocimiento de la patogénesis y tratamiento del cólera. Por el contrario, a partir de 1959 se suceden uno tras otro una serie de acontecimientos trascendentales que transforman en corto tiempo los conceptos fundamentales del padecimiento.

Alteraciones anatómicas. En 1959 Gangarosa y su grupo demuestran, mediante biopsias tomadas *in vivo* del intestino de enfermos de cólera por medio de la cápsula de Crosby, que en este padecimiento no hay lesiones histológicas tal y como se había descrito antes; la mucosa se mantiene intacta^{8,10}. Se trataba sólo de alteraciones que ocurren espontáneamente poco tiempo después de la muerte, o aún en la agnía; entre otras, autólisis del tejido intestinal. En ocasiones se observan ciertas alteraciones tisulares debidas a factores secundarios como la deshidratación o el choque hipovolémico, pero no a la acción directa del germen. El vibrio se multiplica en la luz del intestino pero no invade la mucosa¹¹.

Descubrimiento de la toxina. En forma simultánea e independiente, entre 1959 y 1960, Dutta, De y otros investigadores identifican una enterotoxina como la responsable fundamental de la patogénesis del padecimiento¹². Se trata de una proteína termolábil que el microorganismo elabora, constituyendo el mecanismo básico de su virulencia. Es un activador de la adenilciclase del epitelio intestinal, dando origen a alteraciones sólo funcionales. Se entorpece la absorción del sodio y agua, al mismo tiempo que estimula la pérdida en gran escala de agua y electrolitos (es en sí la diarrea). No se altera la absorción de la glucosa. Estos hallazgos abren caminos espectaculares como el desarrollo de la rehidratación oral que ha permitido bajar la mortalidad por cólera del 50% o más en los casos graves al 1% o



Cuzco, Perú. Jorge y Vicky Loayza.

menos en los enfermos tratados precozmente¹³ (igual éxito se ha tenido con este tratamiento en otras diarreas graves, en particular del niño); el descubrimiento de ciertas variedades de colibacilos también toxigénicos (*Escherichia coli*) que originan diarrea^{14, 15}; la posibilidad del desarrollo de nuevas vacunas basadas en principios más racionales¹⁶.

Es interesante recordar que Koch, desde el descubrimiento del vibrio, sospechó que en su patogenia intervenía una toxina⁶. John Snow, el eminente epidemiólogo inglés, quien dilucidara el origen del brote de cólera conocido históricamente como "Broad Street Pump-1884", ocurrido en Londres, escribió en 1885 "el veneno del cólera irrita la superficie del

estómago e intestino, y probablemente extrae el líquido de la sangre que circula en los capilares".

La infección presenta dos fases, la colonización del intestino delgado mediante la adherencia del germen a la mucosa, seguida de la producción de la enterotoxina¹¹. Ambas fases requieren la presencia de receptores específicos en el epitelio intestinal.¹¹ Se han descrito otras toxinas que parecen tener un papel secundario en el padecimiento.

Séptima pandemia y vibrio El Tor 1961. En el transcurso del siglo XIX y principios del XX, se presentaron seis pandemias de cólera de grandes proporciones, ampliamente descritas.^{8, 17} Algunas se propagaron en forma exten-

sa a países de Asia y el Medio Oriente, llegando hasta Europa y América.

En enero de 1961 se inició un brote de cólera en Sulawesi en las Islas Célebés (Indonesia), que parece ser el preludio de la séptima pandemia que se prolonga hasta nuestros días⁸. Esta pandemia se distingue radicalmente de las anteriores por ser causada por una variedad de vibrio considerado hasta entonces como no colérico conocido como El Tor. Esta variedad de vibrio había sido identificada desde 1905 por Gotschlich¹⁸, quien lo aisló de gentes que a su regreso de su peregrinación por la Meca hacían una escala en el lanzareto o puesto de cuarentena de El Tor en el Sinaí (Egipto)¹⁹. A diferencia del vibrio clásico, se encontró en personas sanas y con cierta facilidad en las aguas del medio ambiente; hasta 1961 se pensaba que El Tor no producía cólera verdadero, sino un síndrome denominado "paracólera"⁸.

Las investigaciones realizadas desde entonces han demostrado que El Tor no sólo es capaz de originar un cuadro clínico idéntico al cólera clásico, aunque mostrando grandes variaciones en su intensidad, sino que elabora la misma toxina. Se estima que por cada cuatro o cinco personas que se infectan con el vibrio clásico, una desarrolla la

Cuadro 1. Clasificación del *Vibrio*

CLASIFICACION DEL VIBRIO			
<i>Vibrio cholerae</i> : biotipos y serotipos			
Todos pertenecen al grupo serológico O1 (vibrios)			
BIOTIPOS			
Biotipo	Hemaglutinación directa	Susceptibilidad a Polimixina B	Hemólisis
Clásico	-	+	-
El Tor	+	-	+
SEROTIPOS			
V. cholerae clásico V. " El Tor		OGAWA, INABA, HIKOJIMA	

enfermedad grave (cólera gravis), en tanto que en el caso de el vibrio El Tor sólo una de cuarenta personas infectadas la sufren; el resto se muestra asintomático o desarrolla una diarrea leve²⁰. Por otro lado, El Tor sobrevive

mejor que el germen clásico en el medio ambiente (agua y alimentos), lo que propicia su persistencia y facilita su propagación⁸.

Clasificación de *Vibrio cholerae*

Como se indica en el esquema, en la actualidad se reconoce la existencia de dos variedades o biotipos de *Vibrio cholerae* como responsables del cólera, el clásico y El Tor, así como tres serotipos de los cuales los más comunes son Inaba y Ogawa. Pertenecen al grupo serológico 1 y son toxigénicos. Se dispone de un sistema de bacteriófagos específicos.^{21, 22, 23}

Además de estos dos biotipos de *Vibrio cholerae* no O1 tenemos otras variedades que no pertenecen al grupo serológico O1 ni producen la toxina colérica, denominados *Vibrio cholerae* O1; junto con algunas especies como *Vibrio parahaemolyticus*, *mimicus*, *vulnificus*, etc., participan en la etiología general de las enfermedades diarreicas sin que causen cólera verdadero; en ocasiones dan origen a infecciones extraintestinales.^{19, 25} Otras especies de *Vibrio*, por cierto numerosas y saprofitas, no causan infección alguna en el hombre, siendo habitantes comunes del medio acuático.¹⁹ (Figura 2.)

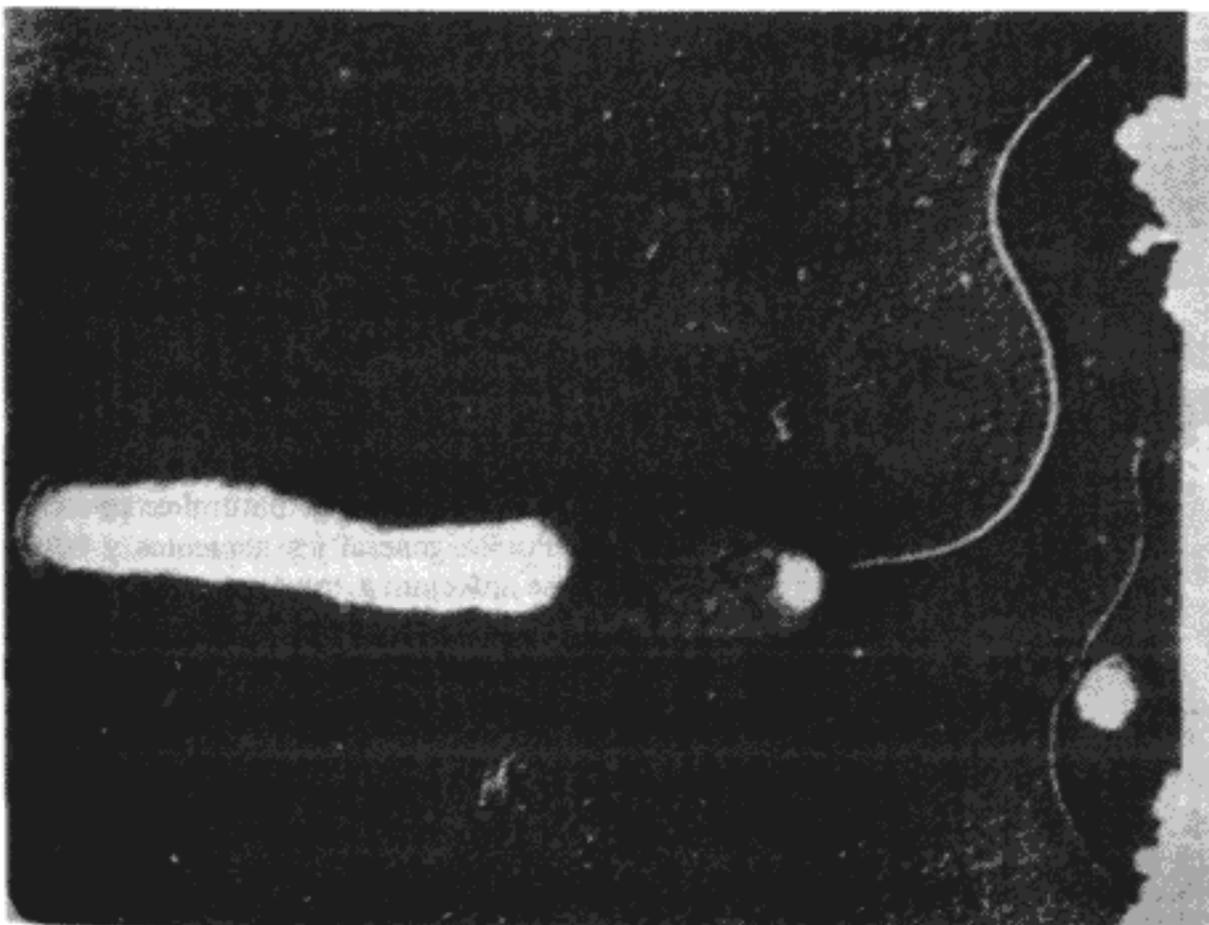


Figura 1. Microfotografía electrónica del *Vibrio cholerae* (50 000)

Reservorios y fuentes de infección

Reservorios. El único huésped natural de *Vibrio cholerae* 01 es el intestino del hombre. No ataca a ninguna especie del género animal. Durante la fase aguda del cólera se encuentran numerosos vibrios en las evacuaciones de los enfermos (en el orden de 10^8 vibrios por mililitro), disminuyendo durante la convalecencia²⁴. Hay portadores de corta duración que por lo general eliminan pocos vibrios. Los portadores crónicos o de larga duración son raros; en estos la eliminación del vibrio es escasa e in-

termitente; además decrece su virulencia⁸.

En años recientes se ha descrito en los Estados Unidos lo que parece ser la existencia de ciertos reservorios acuáticos en los que el vibrio se reproduce en el plancton de estas aguas. Se trata de esteros, pantanos y lagunas de agua salada localizados en las costas del Golfo de México, frecuentemente contaminados con aguas negras²⁵. Hallazgos semejantes se han hecho en Australia. La transmisión al hombre se realiza gracias al consumo de moluscos y crustáceos infectados, provenientes de

tales reservorios. Curiosamente, estos reservorios acuáticos en los que el vibrio aparentemente se reproduce en forma libre, no se han logrado detectar en países asiáticos en los que el cólera ha persistido por largo tiempo.

Fuentes de infección. Como ya se mencionó, la principal fuente de infección en el cólera son las evacuaciones de los enfermos, y en segundo término el vómito y fomites, así como las aguas negras infectadas, que contaminan el agua de uso humano y los alimentos. El vibrio puede sobrevivir en agua dulce o salada, y en las mismas aguas negras, por varios días. Igual cosa ocurre en los alimentos. Los principales alimentos incriminados en su transmisión varían de acuerdo con las costumbres y hábitos alimentarios de las distintas poblaciones, pudiendo ser los mariscos y pescados, carnes de cualquier naturaleza, leche y productos lácteos frescos, verduras y frutas frescas, innumerables alimentos regionales o de consumo popular, etc., etc. Diversos factores pueden influir en su supervivencia como son el grado de acidez o alcalinidad de los alimentos, la temperatura y duración de su conservación antes de ser ingeridos, etc. No cabe duda que la refrigeración es uno de los mejores medios para evitar la multiplicación de las bacterias en los alimentos. Sin embargo, y aunque parezca contradictorio, la refrigeración de los alimentos o bebidas, contaminados previamente, prolonga la supervivencia del vibrio. En el hielo el vibrio se conserva bien. Igual ocurre con los alimentos congelados. Es importante evitar que los alimentos y el agua que hayan sido sometidos a cocción o ebullición, una vez que enfríen, se vuelvan a contaminar⁸.

Las moscas, cucarachas y otros transmisores mecánicos tienen poca importancia en la propagación del cólera. Los moluscos y crustáceos son los únicos transmisores naturales conocidos. Por lo general los alimentos y bebidas se infectan a través de las manos del hombre contaminadas con las deyecciones de los enfermos, o bien, de las aguas negras que contengan el vibrio.

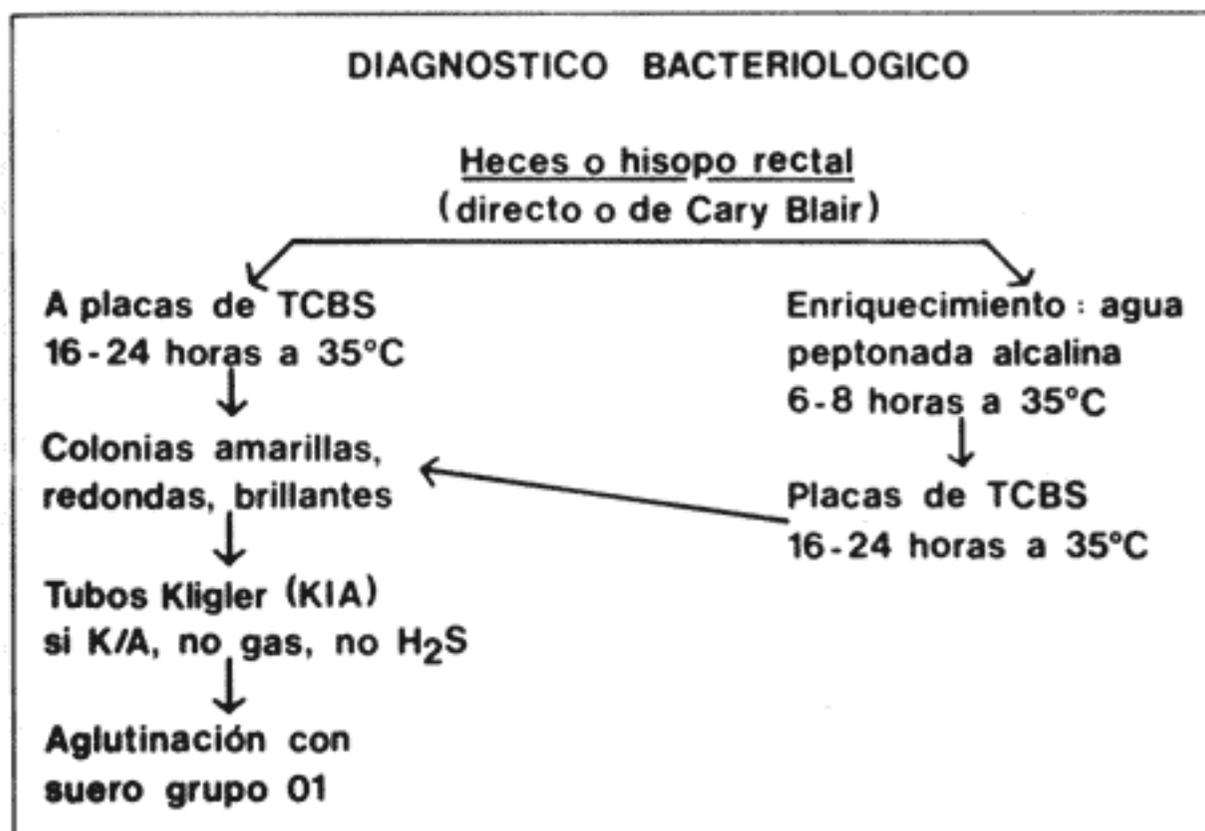
Dstrucción del vibrio. Desinfección

El germen del cólera es muy susceptible a diversos agentes físicos y químicos. Cualquiera que sea el elemento



Figura 2. Plancton.

Cuadro 2. Diagnóstico bacteriológico.



que se elija para su eliminación, es necesario tener presente que su efecto dependerá de la concentración o intensidad del mismo, así como del tiempo que su acción se prolongue. Estos dos factores varían con los distintos agentes.

El calor, tal como se emplea en la preparación de alimentos, ya sea la ebullición o la cocción, destruye fácilmente no sólo el germen del cólera, sino cualquier microorganismo ya sea saprofito o patógeno. El tiempo es importante, pero en general se puede considerar que diez minutos son suficientes. La radiación solar y la desecación son agentes naturales destructores del vibrio.

Numerosas sustancias conocidas como bactericidas, se usan en la práctica con gran eficacia. Entre otras, se pueden mencionar el cloro y sus derivados como el hipoclorito, incluyendo los blanqueadores de ropa; el yodo y derivados como la tintura; las sales cuaternarias de amonio, el permanganato de potasio, los jabones y detergentes, etc. Desde luego los desinfectantes comunes como la creosota, otros fenoles, formol, alcohol, etc.

Como se dijo antes, el vibrio es sensible a la acidez o pH bajo como ocurre en el jugo gástrico, pero también en el jugo de frutas y limones, vinagre, bebidas embotelladas con gas, leches acidificadas como el yogurt, jocoque, etc.

En la esterilización masiva de alimentos, además del calor, se utiliza con gran eficacia la irradiación y las microondas.

Por lo general, *Vibrio cholerae* es susceptible a tetraciclinas, cloranfenicol, bacitracina, eritromicina, furazolidona y otros antibióticos, aunque se han encontrado cepas resistentes¹³.

El lavado de manos con agua y jabón, después de manejar las deyecciones y fómites provenientes de los enfermos, de ir al baño, antes de manipular o preparar los alimentos, y antes de comer, constituye sin duda la medida más elemental y una de las más eficaces en el control del cólera. Desde luego aunada a la eliminación higiénica de los excrementos (excusados, alcantarillado, letrinas, etc.) y abastecimiento de agua potable.

Debemos tener conciencia de que todo lo anterior es fácil de proclamar, pero poco real en la práctica cuando se trata de aplicar en poblaciones carentes de recursos e ignorantes.

Vacunas

Diversos tipos de vacunas se encuentran en fase experimental, sin que por el momento ninguna de ellas se recomienda en el control o prevención del padecimiento^{13, 16}.

Desde los tiempos de Koch se intentó el uso de vacunas muertas contra

el cólera, siendo Jaime Ferrán, investigador español, uno de los pioneros en este campo. Sin embargo, la protección que estas vacunas confieren es deficiente y de corta duración⁹.

Diagnóstico bacteriológico

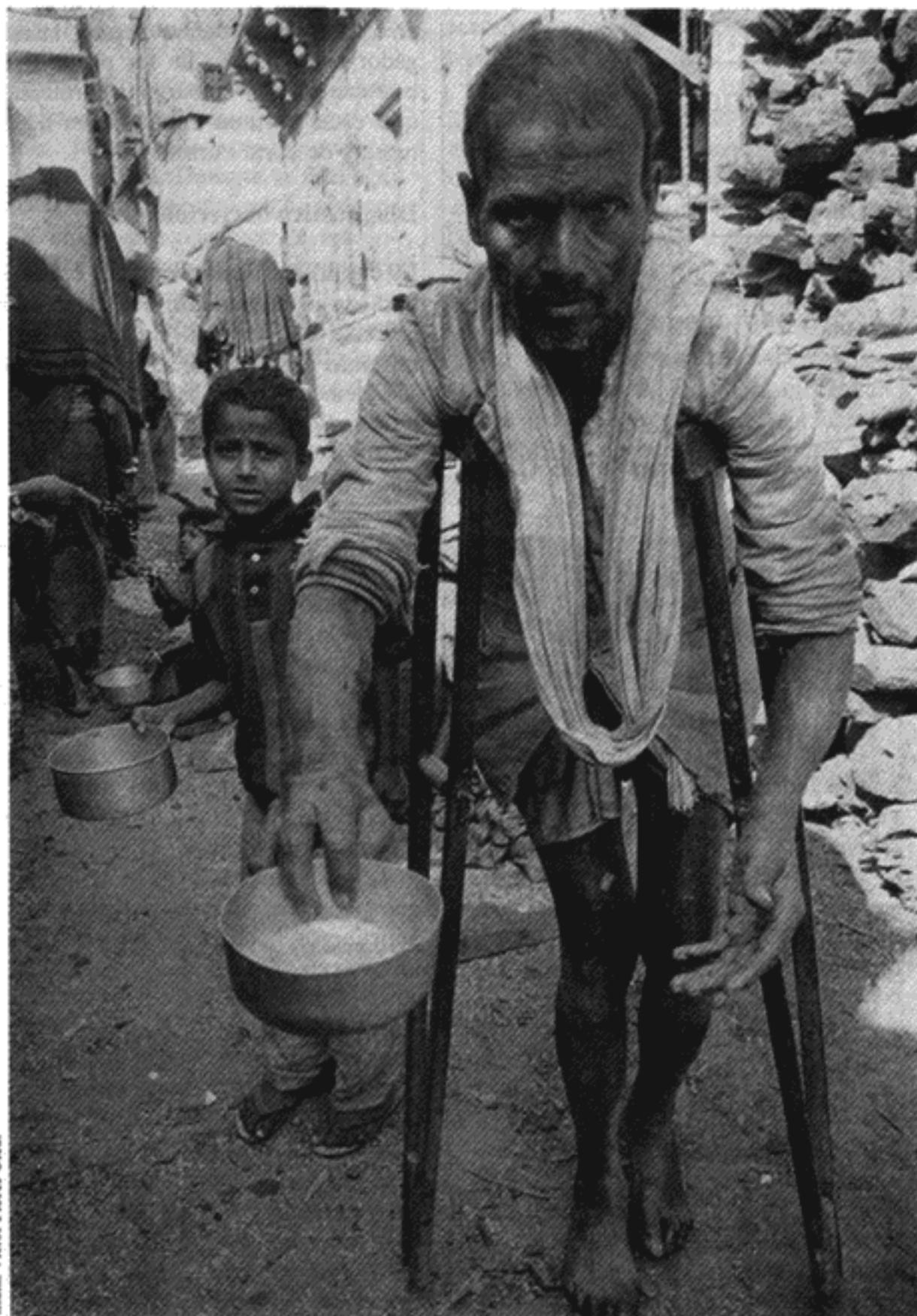
El diagnóstico inequívoco del cólera se basa en el aislamiento e identificación correcta del germen. En el cuadro 2, un tanto simplificado, se indican los pasos elementales de laboratorio a seguir en el caso de la infección humana. La confirmación de la identidad del vibrio sólo está al alcance de laboratorios especializados o de referencia^{13, 23}. En México se cuenta con el Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica (INDRE) de la SSA.

La obtención de muestras para cultivo de las fuentes potenciales del vibrio como agua de consumo humano, aguas negras, alimentos, fómites, moscas, etc., al igual que su traslado al laboratorio y las técnicas bacteriológicas mismas, requiere de una metodología más compleja.^{21, 22, 23}

Se dispone de técnicas serológicas que permiten detectar el desarrollo de anticuerpos contra el vibrio en personas infectadas. Sin embargo, dada la corta duración del padecimiento sólo tienen utilidad en estudios epidemiológicos o el diagnóstico retrospectivo⁴. La observación directa de la movilidad del vibrio en las evacuaciones al microscopio al campo oscuro o en contraste de fase, y su inmovilización por anticuerpos específicos, permite hacer un diagnóstico presuntivo rápido que deberá ser confirmado con el cultivo e identificación del germen.²⁵

Retorno del cólera a América y México

En forma un tanto enigmática, ya que se desconocía en gran parte la dinámica de su epidemiología y sin que se modificaran los elementos socioculturales que favorecen su propagación, el cólera desapareció del continente americano hacia finales del siglo pasado y principios del presente, luego de haber padecido los estragos de tres o cuatro pandemias²⁵. La última epidemia ocurrida en México de que se tiene noticia tuvo lugar en 1882 y abarcó los estados de Chiapas, Tabasco y Oaxaca, según



India. Víctor Flores Olea.

relatos del Dr. Miguel E. Bustamante²⁷. Al menos en apariencia, el continente se mantuvo libre de la infección de 1911 a 1973.

Sorpresivamente, en este último año se descubrió un caso de cólera ocurrido en Port Lavaca, Texas, que fue seguido por otros casos aislados y pequeños brotes observados en varios estados costeros del sureste de Estados Unidos^{25, 28}. El germen aislado de estos enfermos, así como de las fuentes de infección resultó ser *V. cholerae* 01 biotipo El Tor, serotipo Inaba, prácticamente idéntico al germen responsa-

ble de la séptima pandemia. Sin embargo, el estudio genético del cromosoma demostró que se trata de una cepa diferente, sin relación aparente con la pandemia²⁹. Se ha comprobado que el vibrio en este caso proviene de mariscos procedentes de agua infectas de los litorales del golfo de México²⁵.

En 1983 un turista norteamericano contrajo el cólera durante su estancia en Cancún, México; el germen aislado resultó idéntico a las cepas norteamericanas³⁰. Estos hallazgos indican la existencia del cólera por un periodo cercano a dos décadas en esta región del

continente, sin que llegara a propagarse en forma epidémica importante.

La situación cambia dramáticamente en enero del presente año cuando se anuncia la aparición de una epidemia de cólera que avanza con rapidez en el Perú, y en unos cuantos meses se extiende a varios países de América del Sur. El 13 de junio se informa de su presencia en México, a gran distancia del foco peruano, en un poblado relativamente aislado del estado de México (San Miguel Totolmaloya, Municipio de Sultepec). Al poco tiempo se reconocen por lo menos cinco focos más del padecimiento dispersos en varios estados del país, incluyendo Chiapas en la frontera con Guatemala. Tanto en la prensa diaria como en publicaciones formales se le ha dado amplia publicidad al desarrollo de la epidemia (a partir del 16 de mayo la Secretaría de Salud publica un Boletín Quincenal titulado "Cólera/diarreas infecciosas").¹⁷

Las características del germen aislado en América del sur y en México sugieren que se trata de una extensión de la séptima pandemia. Surge una intrigante pregunta relacionada con la reaparición del cólera en México. ¿Cómo pudo venir de una región tan distante como el Perú a una pequeña aldea relativamente aislada del estado de México? Se ha lanzado la hipótesis de que pudiera "haber llegado a través de un portador (narcotraficante) que ingresó a la zona clandestinamente por vía aérea" (Boletín Quincenal, Cólera/Diarreas infecciosas, SS, 1991; año 1 No. 5, p. 1); curiosamente la misma hipótesis fue expuesta por las autoridades sanitarias de Irán, quienes en 1966 sostuvieron que el cólera había sido introducido a ese país por "traficantes de opio" provenientes de Afganistán⁸. Especulando un poco más, otra hipótesis pudiera ser la posibilidad de que el cólera hubiese permanecido acallado por largo tiempo sin ser detectado, ya que sus formas clínicas más comunes se confunden con el enorme grupo de infecciones conocidas como enfermedades diarreicas causadas por otros microorganismos. En los países asiáticos, en particular en el subcontinente hindú, entre epidemia y epidemia se han observado largos periodos de latencia. Sólo cuando se presentan casos verdaderamente graves se piensa en el cólera, o bien, cuando en países cercanos

se detecta alguna epidemia. En contra de esta hipótesis se muestra en una de las figuras, la distribución de las edades que los enfermos presenta en México: predominan los adultos jóvenes, en tanto que es baja la proporción de niños afectados, lo que indicaría ausencia de inmunidad en la población adulta por falta de contacto con el microorganismo. Quizás la respuesta a estas interrogantes se tenga en el análisis genético del germen (epidemiología molecular) encontrado en los distintos países y localidades, que seguramente están en marcha o bien, en el estudio seroepidemiológico utilizando los bancos de sueros sanguíneos recolectados años atrás, con que se cuenta, en los que es fácil detectar la presencia de anticuerpos específicos contra el vibrio que indicarían infecciones viejas o anteriores a la epidemia actual. A propósito, vale la pena recordar que en 1966 y 1967 realizamos una investigación en la que se buscó el vibrio en 343 niños y 40 adultos con diarrea, así como anticuerpos en el suero sanguíneo de 730 personas, con re-

sultados negativos; es decir, no se encontró por entonces rastro alguno de cólera por lo menos en el área metropolitana en la ciudad de México³¹.

En conclusión, el cólera se encuentra en México. A pesar de los adelantos de la epidemiología moderna, la expansión y mejoramiento continuos de los servicios de salud y saneamiento ambiental, y los esfuerzos que realizan estos sectores en el control de la epidemia, sería aventurado prever la erradicación de esta infección en corto tiempo, en particular en aquellos núcleos de población que todavía sobreviven en condiciones culturales, sanitarias e higiénicas primitivas. ♦

Referencias

1. Pacini, F., 1854, Osservazioni microscopiche e deduzione patologiche sul colera asiatico, *Gaz. Med. Italiana* 6:405-412.
2. Lechevalier, H. A., Solotorovsky, M., 1974, *Three centuries of microbiology*, New York, Dover Publications, Inc.
3. Bibel, D. J., 1988, Elie Metchnikoff's bacillus for long life, *ASM News* 54:661-665.

4. Hornick, R.B., S.I., Music, R. Wenzel, R. Cash, J.P. Libonati, M.J. Snyder y T. E. Woodward, 1971, the Broad Street pump revisited: response of volunteers to ingested cholera vibrios, *Bull N.Y. Acad. Med.* 47:1192-1203.
5. Dupont, H.L., M.M. Levine, R.B. Hornick, S.B. Formal, 1989, Inoculum size in chigellosis and implications for expected mode of transmission, *J. Infect. Dis.* 159:1126-1128.
6. Hornick, R.B., S.E. Greisman, T.E. Woodward, H.L. Dupont, A.T. Dawkins, M.J. Snyder, Typhoid fever: pathogenesis and immunologic control, *N. Engl. J. Med.* 283:686-691.
7. Blaser, M.J., L.S. Newman, 1982, A review of human salmonellosis I. Infective dose, *Rev. Infect. Dis.* 4:1096-1106.
8. Barua, D. W. Burrows (eds.), 1974, *Cholera*, Philadelphia, W.B. Saunders Company.
9. Glass, R.I., J. Holmgren, C.E. Haley, 1985, Predisposition for cholera of individuals with O bood group: possible evolutionary significance, *Am. J. Epidemiol.* 121:791-796.
10. Gangarosa, E.J., W.R. Bisei, C. Benyajati, H. Sprinz y P. Pirayatan, 1960, The nature of the gastrointestinal lesion in asiatic cholera and its relation to pathogenesis: biopsy study. *Am. J. Trop. Med.* 9:125-135.



Huellas de una presencia. Rogelio Cuéllar.

11. Levine, M.M., J.B. Kaper, R.E. Black y M.L. Clements, 1983, New knowledge on pathogenesis of bacterial enteric infections as applied to vaccine development, *Microbiol. Rev.* 47:510-550.
 12. De, S.N., 1959, Enterotoxicity of bacteria free culture filtrate of *Vibrio cholerae*, *Nature (Lond.)* 183:1533-1534.
 13. World Health Organization: Guidelines

for cholera control, 1986, WHO / CDD / SER / 80.4, Ginebra: WHO.
 14. Smith, H. W. y C.L. Gyles, 1970, The relationship between two apparently different enterotoxins produced by enteropathogenic strains of *Escherichia coli*, *J. Med. Microbiol.* 3:387.
 15. Dupont, H.L., S.B. Formal, R.B. Hornick, M.J. Snyder, J.P. Libonati, D.E.,

Sheanan, E.H. Larec y J.P. Kalas 1971, Pathogenesis of *Escherichia coli* diarrhea, *N. Engl. J. Med.* 285:1.
 16. Holmgren J., A. Lindberg y R. Mollby (eds.), 1986, Development of vaccines and drugs against diarrhea 11th Nobel Conference, Stockholm 1985, Lund: Studentlitteratur.
 17. Valdespino, J.L., M.L. García, M. Hinojosa, E. Sarti y J. Sepúlveda, 1991, Epidemia de cólera en América, *Ciencia y Desarrollo (CONACYT)* 17:55-64.
 18. Gotschlich, F., 1906, Ueber cholera-und cholera-ähnliche vibrionen unter den aus Mekka zuruckkehrenden pilgern, *Z. Hyg. Infektionskr* 53:281-304.
 19. Buchanan, R.E., N.E. Gibbons (eds.), 1974, *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 8a. ed. Baltimore, The Williams and Wilkins Company.
 20. Bart, K. J., A. Huq, M. Kahn y W.H. Mosley, 1970, Seroepidemiologic studies during a simultaneous epidemic of infection with El Tor Ogawa and classical Inaba *Vibrio cholerae*, *J. Infect. Dis.* 121: suppl: S17-S24.
 21. Balows, A. W.J. Hausler, K.L. Herrmann, H.D. Isemberg y H.J. Shadomy (eds.), 1991, *Manual of clinical microbiology*, 5a. ed. Washington, D.C. American Society for Microbiology.
 22. World Health Organization, 1987, *Manual for laboratory investigations of acute enteric infections*, Ginebra, Programme for control of diarrhoeal diseases.
 23. Giono, S.C., L.C. Gutiérrez, A.M.A. Hinojosa, 1991, *Manual de procedimientos para aislamiento y caracterización de Vibrio cholerae 01*. México, D.F. Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, INDRE No. 10.
 24. Gorbach, S.L. J.G. Banwell, B. Jacobs, B.D. Chatterjee, R. Mitra, K. Brigham y K.N. Neogy, 1970, Intestinal microflora in Asiatic cholera I. "Rice-water" stool, *J. Infect. Dis* 121:32-37.
 25. Morris, J.G. y R.E. Black, 1985, Cholera and other vibriosis in the United States, *N. Engl. J. Med.* 312:343-350.
 26. Benenson, A.S., M.R. Islam, W.B.III Greenough, 1964, rapid identification of *Vibrio cholerae* by darkfield microscopy, *Bull. Wld. Hlth. Org.* 30:827-831.
 27. Olarte, J., 1977, Cólera, En: *Enfermedades diarreicas en el niño*, 3a. ed. México, D.F. Ediciones Médicas del Hospital Infantil de México: 209-215.
 28. Kelly, M.T., J.W. Peterson, W.E. Sarles, M. Romanko, D. Martin y B. Hafkin, 1982, Cholera on the Texas gulf coast, *JAMA* 247: 1598-1599.
 29. Kaper, J.B. H. B. Bradford, N.C. Roberts y S. Falkow, 1982, Molecular epidemiology of *Vibrio cholerae* in the U.S. Gulf Coast, *J. Clin. Microbiol* 16:129-134.
 30. Blake, P.A. K. Wachmuth, B.R. Davisy C.A. Bopp, 1983, Toxigenic *Vibrio cholerae 01* strain from Mexico identical to United States isolates, *Lancet* 2:912.
 31. Varela, G. J. Olarte, A. Pérez-Miravete y L. Filloy, 1966-67, Failure to find cholera and non cholera vibrios in diarrheal disease in Mexico City, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 20:925-926.



Carlos Coetzeras.



Aproximación a la vida, Sara Facio.