

El cólera

Sarah Lafuente
Ana Vilella
Beatriz Serrano
Raquel González
Laia Bruni

Servicio de Medicina
Preventiva
UASP
(Unitat d'avaluació
suport i prevenció)
Hospital Clínic
de Barcelona

Correspondencia:
Sarah Lafuente
Medicina Preventiva
UASP (Unitat d'avaluació
suport i prevenció)
Rosselló, 138
08036 Barcelona

Resumen

El cólera es una enfermedad diarreica transmisible protagonista de 7 importantes pandemias a lo largo de la historia y que, hoy en día, está totalmente controlada en los países desarrollados gracias a la gran mejoría de las condiciones higiénico-sanitarias. A pesar de ello, sigue siendo causante de miles de muertes cada año en los países más desfavorecidos del planeta.

La bacteria *Vibrio cholerae*, responsable de esta patología, se transmite a través del agua/alimentos contaminados y cuando es capaz de invadir el intestino humano secreta una toxina causante de cuadros de diarrea que pueden llegar a ser muy severos, y, en caso de retraso/falta de tratamiento, acabar con la vida del afectado.

Sus reservorios habituales son la persona contaminada y el agua. Las estrategias de control de la transmisión de la enfermedad son sencillas y sobradamente conocidas. El abastecimiento de agua limpia y su correcta depuración, junto con las prácticas higiénicas básicas en el tratamiento de los alimentos, pueden evitar la aparición de la enfermedad. Tristemente, estas condiciones no se cumplen en los países más pobres y los esfuerzos dedicados al desarrollo de una vacuna preventiva son muy grandes.

De las tres vacunas disponibles actualmente, destacamos la vacuna oral de células muertas enriquecida con parte de la toxina, que ha demostrado ser altamente eficaz y segura. El papel de la inmunización es importante en el control de la enfermedad, tanto en áreas endémicas como en zonas con riesgo de epidemia. Los viajeros de alto riesgo son también candidatos a vacunación.

Palabras clave: Cólera. Toxina. Transmisión. Pandemia. Endemia. Vacuna.

Summary

Cholera is a transmissible diarrheal disease the cause of 7 important pandemics throughout history which in the present day is completely controlled in developed countries thanks to the greatly improved hygienic sanitary conditions. In spite of this it is still the cause of thousands of deaths every year in the most disadvantaged countries of the planet.

The bacteria *Vibrio cholerae*, the cause of this pathology, is transmitted by means of contaminated food and water

and when it is able to invade the human intestine it secretes a toxin causing bouts of diarrhoea which can become extremely severe and, in the case of delay/lack of treatment, can cause the death of the affected person.

Its usual reservoirs are the contaminated person and water. The transmission control strategies of the disease are simple and only too well known. The provision of clean water and its correct purification together with basic hygienic practices in the treatment of food can avoid the appearance of the disease. Sadly, these conditions are not fulfilled in the poorer countries and the efforts dedicated to the development of a preventive vaccine are great.

Of the three available vaccines at present, we highlight the oral vaccine of dead cells enriched with part of the toxin, which has shown to be highly efficient and safe. The role of immunization is important in the control of the disease, both in endemic areas and zones with risk of epidemic. High risk travellers are also candidates for vaccination.

Palabras clave: Cholera. Toxin. Transmission. Pandemic. Endemic. Vaccine.

El cólera es una enfermedad diarreica con una gran trascendencia histórica. El agente responsable es el *Vibrio cholerae*, un bacilo curvo gramnegativo, del cual sólo los subtipos de serogrupo O1 y O139 han sido asociados al cólera. El primero ha sido el responsable de prácticamente todas las epidemias, y de él se han descrito 3 serotipos (Ogawa, Inaba y Hikojima) y dos biotipos (Clásico y el Tor). El segundo serogrupo, el O139, apareció en el año 1992 y hoy es el causante de la enfermedad en gran parte de Asia.

Esta bacteria invade la pared del intestino delgado y, allí, secreta la toxina CT que promueve la secreción de cloro y agua por las células de la cripta intestinal. Por esta razón, aparece una profusa diarrea acuosa que puede provocar deshidratación de intensidad variable. Aunque la diarrea es un síntoma común provocado por muchos otros enteropatógenos, sólo el cólera es capaz de provocar una deshidratación

tan grave en un periodo de tiempo tan corto. Otros síntomas comunes en esta patología son el dolor abdominal, los vómitos y todos aquellos relacionados con la deshidratación del paciente, como calambres generalizados y oliguria. La clínica suele aparecer al cabo de 2-3 días de haber ingerido/bebido el producto contaminado y dura entre uno y pocos días. En cuanto al tratamiento, el objetivo principal es restaurar las pérdidas de líquido y electrolitos con rehidratación oral o endovenosa dependiendo de la gravedad. Los fármacos antimicrobianos (tetraciclina y doxiciclina) desempeñan un papel secundario reduciendo el volumen y la duración de la diarrea. El diagnóstico se establece a partir del cultivo de la bacteria en las heces de los individuos afectados.

Evolución histórica

El cólera era, en la antigüedad, una enfermedad poco frecuente y limitada al delta del río Ganges, en la India. La era moderna de esta enfermedad, a partir del 1800, se caracteriza por 7 pandemias que la han extendido por todo el mundo, convirtiéndola en la primera enfermedad infecciosa "globalizada". La primera estalla en Calcuta en el año 1817. A partir del festival tradicional Kumbh celebrado en el delta del Ganges, la enfermedad se propaga por toda la India y se estima que ocasiona cientos de miles de muertes. Desde allí la patología se extiende por Rusia y Europa del Este y en el año 1827 afecta por primera vez la Europa Occidental. Durante la segunda y más devastadora epidemia, entre el 1826 y el 1837, el cólera se extiende por prácticamente toda Europa y gran parte de los EEUU. Es en la tercera pandemia, en el año 1854, cuando John Snow descubre, gracias a un estudio epidemiológico metodológicamente exhaustivo y acertado, que la causa de la enfermedad es un microorganismo que se transmite por el medio acuoso y que causa patología cuando es ingerido. Este trabajo significó el primer estudio riguroso de epidemiología y es, a día de hoy, uno de los estudios de salud pública más famosos. Sin embargo, estos hallazgos no fueron aceptados por las autoridades del momento, que preferían creer que era una enfermedad que se transmitía por vía aérea. La cuarta epidemia nace también en India en el 1863 y se extiende rápidamente por Europa y EEUU, y aunque las mejoras en salud pública limitan en parte sus consecuencias, las muertes se cuentan en decenas de miles.

El microorganismo responsable del cólera es descubierto por el Dr. Robert Koch en el año 1883 que lo identifica en las heces de individuos afectados en

Egipto durante la quinta pandemia. Sin embargo, las bases del mecanismo de control de esta infección no se sentarán hasta el año 1893, que siguen siendo, en gran parte, las mismas que utilizamos hoy en día.

La sexta epidemia tiene lugar a partir del año 1899 afectando a gran parte de Asia. La importante mejora de las condiciones del saneamiento y de las medidas de control evitan que se extienda a la mayor parte de las ciudades de EEUU y Europa.

Los casos de cólera que aparecen en nuestros días, corresponden a la séptima epidemia que se inició en 1970.

El cólera en nuestros días

Hoy en día la mejora de las condiciones sanitarias de los países desarrollados ha permitido disminuir la incidencia de las enfermedades de transmisión hídrica e incluso evitar la aparición de alguna de ellas como el cólera. A pesar de ello, el cólera sigue afectando los países en vías de desarrollo, con malas infraestructuras sanitarias, que no pueden frenar su extensión aun conociendo sus vías de transmisión. En comunidades no preparadas, el cólera puede llegar a índices de letalidad del 50% debido a la falta o retraso en el tratamiento.

El *Vibrio* responsable de la séptima y actual pandemia emergió en Indonesia en el año 1981. Se trata del biotipo nombrado El Tor de *Vibrio cholerae* O1. Se extendió por Asia y África y afectó también a América Latina; a partir de Perú², se propagó por todo Suramérica ocasionando más de 4.000 muertes ese mismo año.

Otra cepa capaz de producir patología es la O139 o Bengal que aparece en el año 1992 en la India y Bangladesh y, aunque algunos lo interpretaron como la octava pandemia, la infección se mantiene de momento confinada a estos dos países.

Actualmente el continente más afectado por el cólera es África: todas las epidemias más destacables en estos últimos años han tenido lugar en este continente. En el año 1994, en la República Democrática del Congo, el cólera se expandió entre refugiados ruandeses ocasionando más de 25.000 muertes en escasas semanas³. En este mismo país, entre marzo de 2001 y octubre de 2002, otro episodio acabó con la vida de más de 2.000 infectados. Todos ellos eran refugiados que vivían en situación extrema, con mínimas condiciones sanitarias e higiénicas.

Durante el año 2004⁴, 56 países han notificado a la OMS un total de 101.383 casos de cólera y 2.345 muertes. Esto supone una letalidad un 2,3% superior a la del año anterior. Ocurrieron en África el 94% de todos los casos declarados, y el resto en Asia y América Latina, mientras que los casos notificados en Europa y EEUU fueron todos importados. Los últimos datos disponibles sobre incidencia de cólera, referentes al año 2005⁵, informan de 46.524 casos con 1.497 muertes. El 93% del total de los casos han aparecido en el continente africano; los países afectados, en orden decreciente de número de casos declarados, han sido: Senegal, Guinea Bissau, Mauritania, Guinea, Burkina Faso, Benin, Mali y Níger. El resto de casos corresponden a Afganistán. La tasa de letalidad global es del 3,2%, que sigue la tendencia creciente de estos últimos años. Podemos ver, por tanto, como el cólera es hoy en día una patología íntimamente relacionada con la pobreza.

Epidemiología

El cólera tiene aspectos epidemiológicos muy particulares⁶: es capaz de producir epidemias con potencial pandémico o puede permanecer endémico en las áreas afectadas. El patrón endémico, a diferencia del epidémico, afecta mayoritariamente a niños/as que viven en poblaciones con inmunidad preexistente. El patrón epidémico suele afectar a individuos de todas las edades de poblaciones sin inmunidad existente, a partir de la introducción simple por diseminación fecal-oral.

El reservorio natural de este microorganismo es el medio acuático en el que vive unido a una clase particular de algas, o a los caparzones de los crustáceos o copépodos (zooplancton). Los seres humanos también son reservorio del *Vibrio cholerae*, pudiendo eliminarlo por las heces durante largos periodos de tiempo (meses o años).

La principal vía de contaminación de *Vibrio cholerae* es la transmisión por aguas contaminadas y los factores de riesgo descritos asociados a esta vía han sido: beber agua sin hervir, introducir las manos dentro de contenedores utilizados para almacenar agua, beber bebidas con hielo contaminado y beber fuera del hogar⁷. Otra vía de infección son los alimentos contaminados, como el arroz, pescado crudo, mariscos, vegetales, frutas frescas y platos que llevan tiempo preparados. La transmisión persona-persona es poco probable porque se necesitan inóculos muy grandes para conseguir la infección.

Una característica adicional que determina la capacidad infectiva de la bacteria es el patrón estacional. Los brotes han sido asociados a los meses más calurosos del año y los países con más de una estación calurosa al año pueden presentar más de una epidemia, como es el caso de Bangladesh.

Los factores del huésped que influyen en la transmisión de esta enfermedad son la infección por *H. pilory* y el grupo sanguíneo O. El cólera ha sido asociado con la gastritis crónica provocada por *H. pilory*⁸, ya que la capacidad del estómago para reducir la infectividad del *Vibrio* está relacionada con un ambiente hiperclorhídrico que lo inactiva y por tanto impide que éste invada el intestino, y en casos de hipoclorhidia la bacteria puede llegar al intestino con capacidad infectiva. El grupo sanguíneo O se ha asociado varias veces a formas más graves de la enfermedad, pero se desconoce el mecanismo responsable².

Medidas preventivas

Para prevenir la enfermedad disponemos de dos estrategias distintas: las medidas ambientales que actúan sobre el *Vibrio* y el agua, su reservorio ambiental, y las vacunas que lo hacen sobre el hombre, proporcionándole inmunidad protectora frente a la bacteria.

Ambientales

Desde principios del siglo pasado se han dedicado todo tipo de esfuerzos a controlar la propagación de esta temible enfermedad. Las medidas que han demostrado ser más eficaces han sido las ambientales, al cortar la propagación inhibiendo la multiplicación del agente.

Unas buenas condiciones higiénico-sanitarias basadas en una infraestructura urbana básica son imprescindibles para impedir la transmisión de la enfermedad; prueba de ello es la desaparición prácticamente absoluta de esta enfermedad en los países desarrollados a partir de la adopción de medidas básicas de saneamiento (proveer agua potable y asegurar una apropiada depuración de las excreciones). Mientras esto no sea posible por la falta de recursos, otro tipo de medidas deben ser adoptadas para frenar esta infección en los países más afectados.

Proporcionar agua "más limpia" es un arma preventiva muy eficaz. Una sencilla desinfección del agua

con una solución hipoclorhídrica en el lugar donde va a ser utilizada puede ser muy coste-efectiva; un almacenamiento seguro del agua que garantice su no contaminación y un tratamiento adecuado de los residuos son también muy importantes.

Introducir una manipulación más segura de los alimentos es la siguiente medida preventiva en el control de esta enfermedad. El conocimiento en prácticas higiénicas básicas por parte de la población en riesgo es necesario. En cuanto a los alimentos que se pueden adquirir en la calle, es fundamental asegurar la educación sanitaria y la regulación de los vendedores ambulantes.

El control activo del *Vibrio* en el medio ambiente puede predecir la aparición de una epidemia y esto tiene un gran impacto en la prevención de la misma. La OMS⁹ recomienda un plan de detección precoz del cólera que se resume en las siguientes acciones: identificación precoz y basada en una definición estándar de los casos, notificación a las autoridades, la movilización de recursos, la activación de equipos de asistencia móviles y, por último, la posibilidad de disponer de centros asistenciales de emergencia.

Vacunas

Mientras no se puedan satisfacer las necesidades de saneamiento e higiene básicas para interrumpir la transmisión del *Vibrio cholerae*, la utilidad de una vacuna eficaz es clara. Los esfuerzos puestos en el desarrollo de esta vacuna han sido muchos y los resultados no han sido siempre demasiado alentadores.

El Dr. Jaime Ferran y Clua¹⁰ fue el primer investigador que utilizó una vacuna contra el cólera. Fue durante un brote en Valencia, en el año 1884, cuando este médico catalán logró controlar la expansión de la enfermedad inmunizando a la población. El desarrollo de la vacuna en manos del Dr. Ferran no prosperó ya que éste se negó a dar información a una comisión del Instituto Pasteur que quería colaborar en el desarrollo de dicha vacuna.

Fue el doctor ruso Haffkine quien en el 1894, en Calcuta, demostró haber hallado una vacuna a base de bacterias atenuadas que se administraba por vía parenteral. A este investigador ruso se le atribuye el descubrimiento de la vacuna. Fue una vacuna muy usada a partir de los años '60 entre los expatriados a zonas endémicas pero, ya a finales de los años '70, cayó en desuso. Varios factores explican este hecho, entre los que destacan: el corto período de protección, la necesidad de revacunación cada 6 meses y

la mejoría de las condiciones higiénico-sanitarias de los expatriados. Asimismo, desde el año 1973¹¹ es sabido que este tipo de vacunas no impide la transmisión fecal-oral y, por tanto, que no sirve para limitar la extensión de la enfermedad propagada por viajeros.

Como hemos visto anteriormente, el cólera está muy presente en muchos países del mundo, todo tipo de armas preventivas son necesarias en la lucha contra esta enfermedad y, entre ellas, el desarrollo de una vacuna segura y eficaz.

La búsqueda de una vacuna eficaz del cólera ha sido constante. Actualmente, existen tres vacunas contra el cólera¹²; una de ellas es la vacuna parenteral de *Vibrio* inactivado y, las otras dos, son orales, una con la bacteria inactivada y otra con la bacteria atenuada.

Vacuna parenteral inactivada de células enteras

Vacuna muy utilizada antes de disponer de las vacunas orales. Contiene *Vibrio cholerae* inactivado correspondiente a los serotipos Ogawa y Inaba.

La OMS ha dejado de recomendar esta vacuna debido a su incapacidad para frenar la extensión de la infección (el estado de portador), su baja efectividad, la corta duración de la protección con necesidad de revacunación cada seis meses y su elevada reactogenicidad¹³. Sin embargo, un reciente metaanálisis Cochrane¹⁴ insiste en su alta eficacia y efectividad y sugiere que la OMS revise sus recomendaciones respecto a la misma.

Vacunas orales

Con el propósito de provocar respuesta inmunitaria en la mucosa intestinal y así imitar la respuesta natural a la infección por esta bacteria y conseguir una protección más duradera, se han desarrollado las vacunas orales que, hasta ahora, han sido las que han demostrado tener un mejor resultado. Actualmente, son dos las vacunas orales que están siendo utilizadas:

- *Vacuna oral atenuada* (CVD 103-HgR): Se trata de una vacuna de *Vibrio cholerae* O1 clásico, de la cepa 103-HgR, genéticamente manipulado y atenuado mediante la extracción de los genes que codifican la mayor parte de la toxina, manteniendo los responsables de la subunidad B de la misma. La seguridad e inmunogenicidad de la misma fue evaluada por un estudio randomizado realizado por Cryz, *et al.*¹⁵ Según un trabajo llevado a cabo en Indonesia¹⁶ esta vacuna tiene

- pobres resultados en pacientes residentes en áreas endémicas. A pesar de ello, un estudio¹⁷ publicado a finales de los años 80 demostró una protección frente al cólera mayor del 90% en voluntarios estadounidenses sanos. El principal efecto secundario relacionado con esta vacuna es la diarrea leve, que puede afectar hasta un 2% de los vacunados.
- Su característica diferencial es que confiere protección en un breve período de tiempo (1 semana tras la vacunación).
 - *Vacunas orales de células enteras muertas (WC/rBS)*: Es la única vacuna comercializada y disponible en España actualmente.
 - *Descripción*: Esta vacuna contiene la bacteria entera junto con la subunidad B de la toxina colérica. Cada dosis de vacuna contiene:
 - *Vibrio Cholerae O1* Inaba, clásico inactivado por calor: $2,5 \times 10^{10}$
 - *Vibrio Cholerae O1* Inaba, El Tor, inactivado con formol: $2,5 \times 10^{10}$
 - *Vibrio Cholerae O1* Ogawa, clásico, inactivado por calor: $2,5 \times 10^{10}$
 - *Vibrio Cholerae O1* Ogawa clásico inactivado con formol: $2,5 \times 10^{10}$
 - Subunidad B de la toxina del cólera recombinante (TCB₁) 1mg.
 - *Resultados*: Según el mayor estudio de esta vacuna desarrollado en Bangladesh¹⁸ con 60.000 personas de más de 2 años, la protección durante 3 años para los mayores de 5 años resultó ser del 63% (85% los 6 primeros meses y 50% hasta los 3 años) con una protección más baja para los menores de 5 años. Además, en este mismo estudio, la vacuna demostró ser protectora, durante un corto período de tiempo frente a *E. coli* enterotoxigénica. Otro estudio¹⁹ realizado en Marruecos en el año 1991 presenta resultados similares. Parece ser que podría existir una protección cruzada entre la toxina termolábil de *E. coli* y la toxina colérica, de manera que los anticuerpos destinados a neutralizarla también inhibirían la toxina enterotóxica del *E. coli*.
 - Un estudio de eficacia realizado en Perú con una pauta de dos dosis de esta vacuna²⁰ concluye que son necesarios recuerdos periódicos de esta vacuna para mantener niveles altos de protección. La pauta recomendada de esta vacuna es de dos dosis separadas una semana en adultos, y con una tercera dosis a las 2 semanas de la primera en niños menores de 6 años.

Según un informe de la OMS del año 2002⁹ sobre el papel de la vacunación en el control del cólera en el mundo, las vacunas orales se deben considerar como una herramienta de salud pública en áreas endémicas siempre que éstas sean baratas y de sencillo manejo. También apunta la OMS, en este mismo informe, que se trata de una medida coste-efectiva sólo en zonas de alta endemicidad y no debe sustituir la disponibilidad de un buen tratamiento. Los autores insisten en la necesidad de seguir investigando en la eficacia de la vacuna oral atenuada y en la inclusión de la cepa O139 en su composición, debido a la implicación de ésta en recientes infecciones y a su capacidad de protagonizar una posible pandemia. Según este informe, es necesario llevar a cabo proyectos, bien diseñados, para el control del cólera con vacunas orales en zonas endémicas y epidémicas, y así disponer de la información necesaria en la propuesta de planes globales de prevención. En 2005 se realizó un estudio en Beira, segunda ciudad más grande de Mozambique, con la finalidad de conocer el impacto de la vacuna en el control del cólera endémico²¹. Para ello utilizaron la vacuna oral inactivada WC/rBS y, mediante un estudio caso control, estudiaron su capacidad protectora al administrar dos dosis, que resultó ser del 78%. Éste es un importante ejemplo de cómo la vacuna del cólera, a falta de medidas de prevención más eficaces, puede ser una buena arma de control en países altamente endémicos.

La OMS recomienda también la vacuna oral de células muertas en poblaciones con riesgo inminente de epidemia.

En cuanto a la vacunación para viajeros, las recomendaciones se limitan a aquellos individuos que vivan o trabajen en zonas altamente endémicas y que se encuentren en condiciones sanitarias muy pobres, como los campos de refugiados. En el caso de la vacuna oral inactivada con subunidad B y, debido a su potencial protección cruzada frente *E. coli* enterotóxico, hay actualmente un debate abierto acerca de su posible uso en viajeros para prevenir cuadros diarreicos²².

Bibliografía

1. History of Plagues[sitio en internet]. (October 2001) Cholera. Disponible en <http://uhavax.hartford.edu/bug/histepi.htm>.
2. Swerdlow DL, Mintz ED, Rodriguez M, *et al.* Waterborne transmission of epidemic cholera in Trujillo, Peru: lessons for a continent at risk. *Lancet*. 1992;340(8810):28-33.

3. Siddique AK, Salam A, Islam MS, *et al.* Why treatment centres failed to prevent cholera deaths among Rwandan refugees in Goma, Zaire. *Lancet* 1995;345(8946): 359-61.
4. Cholera 2004. *Weekly Epidemiological Record*, 2004,80:261-8.
5. WHO Diseases Outbreak News. [actualizado enero 2006]. Disponible en: <http://www.who.int/csr/don/en/>
6. Seas C, Gotuzzo E. *Vibrio cholerae*. En: Mandell, Bennett y Dolin. *Enfermedades Infecciosas*. 5ª edición. Madrid: Panamericana; 2002;2748-56.
7. Ries AA, Vugia DJ, Beingolea L, *et al.* Cholera in Piura, Peru: a modern urban epidemic. *Journal of Infectious Diseases* 1992;166(6):1429-33.
8. Clemens J, Albert MJ, Rao M, *et al.* Impact of infection by *Helicobacter pylori* on the risk and severity of endemic cholera. *Journal of Infectious Diseases* 1995;171(6):1653-6.
9. WHO. Cholera vaccines: a new public health tool? Report of a WHO meeting. Geneva, Switzerland, 12-13 May 1999. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/hq/2004/WHO_CDS_CPE_ZFK_2004.5.pdf
10. Olagüe G. Jaime Ferrán y Clúa (1852-1929) and the 1885 cholera vaccination campaign. Disponible en: <http://www.fcs.es/fcs/eng/eidon/Introing/eidon10/perfiles/perfiles.jsp>
11. Sommer A, Mosley WH. Ineffectiveness of cholera vaccination as an epidemic control measure. *Lancet* 1973;1:1232-5.
12. Sack D, Cadoz M. Cholera vaccines. En: Plotkin, Orenstein. *Vaccines*. Philadelphia: 1999;639-49.
13. The WHO Position Paper on Cholera vaccines Published on 20 April 2001;76(16):117-24.
14. Graves P, Deeks J, Demicheli V, Pratt M, Jefferson T. Vacunas para la prevención del cólera (Revisión Cochrane traducida). En: La Biblioteca Cochrane Plus, 2005 Número 4. Oxford: Update Software Ltd. Disponible en: <http://www.update-software.com>. (Traducida de The Cochrane Library, 2005 Issue 4. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.).
15. Cryz SJ Jr, Levine MM, Kaper JB, Furer E, Althaus B. Randomized double-blind placebo controlled trial to evaluate the safety and immunogenicity of the live oral cholera vaccine strain CVD 103-HgR in Swiss adults. *Vaccine* 1990;8(6):577-80.
16. Richie EE, Punjabi NH, Sidharta YY, *et al.* Efficacy trial of single-dose live oral cholera vaccine CVD 103-HgR in North Jakarta, Indonesia, a cholera-endemic area. *Vaccine* 2000;18(22):2399-410.
17. Levine MM, Kaper JB, Herrington D, *et al.* Safety, immunogenicity, and efficacy of recombinant live oral cholera vaccines, CVD 103 and CVD 103-HgR. *Lancet* 1988;2(8609):467-70.
18. Clemens JD, Sack DA, Harris JR, *et al.* Field trial of oral cholera vaccines in Bangladesh: results from three-year follow-up. *Lancet* 1990;335(8684):270-3.
19. Peltola H, Siitonen A, Kyronseppä H, *et al.* Prevention of travellers' diarrhoea by oral B-subunit/whole-cell cholera vaccine. *Lancet* 1991;338(8778):1285-9.
20. Sanchez JL, Vasquez B, Begue RE, *et al.* Protective efficacy of oral whole-cell/recombinant-B-subunit cholera vaccine in Peruvian military recruits. *Lancet* 1994;344(8932):1273-6.
21. Lucas ME, Deen JL, von Seidlein L, *et al.* Effectiveness of mass oral cholera vaccination in Beira, Mozambique. *N Engl J Med* 2005;352(8):757-67.
22. Steffen R, Castelli F, Dieter Nothdurft H, Rombo L, Jane Zuckerman N. Vaccination against enterotoxigenic *Escherichia coli*, a cause of travelers' diarrhea. *J Travel Med* 2005;12(2):102-7.