

COMUNICACION BREVE

Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí"

CARACTERIZACIÓN DE UN BROTE DE SHIGELLA BOYDII 14 POR PRIMERA VEZ EN CUBA

Dra. Margarita Ramírez Álvarez,¹ Lic. Laura Bravo Fariñas,² Dra. Alina Llop Hernández,³ Lic. Roberto Cabrera Ortega,⁴ Téc. Belkys García Rodríguez⁵ y Téc. Anabel Fernández Abreu⁶

RESUMEN

Se propuso la caracterización de 14 cepas de *Shigella boydii* 14 aisladas de pacientes con enfermedad diarreica aguda mediante sus plásmidos de resistencia y de las proteínas de la membrana externa presentes en ellas. Se realizó la determinación de la susceptibilidad antimicrobiana por el método de concentración mínima inhibitoria, la extracción de plásmidos R fue según Manaitis, los extractos proteicos de las cepas se obtuvieron según el método de Blaser modificado y las proteínas de la membrana externa fueron separadas por SDS-PAGE por el método de Laemmli. Se comprobó que las cepas resultaron resistentes a la ampicilina (100 %), la tetraciclina (70 %) y al cotrimoxazol (50 %), y sensibles al ácido nalidíxico y a la ciprofloxacina. Se observó la presencia de plásmidos al nivel de los 43; 23; 20; 5,6 y 1,2 kb. Las proteínas de la membrana externa y el perfil proteico demostraron diferencias con otras especies de *Shigella*. Este serotipo de *Shigella* se aísla por primera vez en Cuba y sus características la hacen altamente patógena y de muy difícil diagnóstico, por lo que la caracterización de este brote es importante desde el punto de vista epidemiológico.

Descriptores DeCS: SHIGELLA BOYDII/aislamiento & purificación; DISENTERIA BACILAR; FACTORES R/análisis; PROTEINAS DE LA MEMBRANA BACTERIANA EXTERNA/análisis; CUBA.

Los microorganismos del género *Shigella* se encuentran entre los agentes identificados con mayor frecuencia en los

niños con enfermedad diarreica aguda (EDA) en los países en vías de desarrollo.¹ Las drogas antimicrobianas han demostrado

¹ Especialista de I Grado en Microbiología. Investigadora Agregada.

² Licenciada en Microbiología. Investigadora Auxiliar.

³ Especialista de II Grado en Microbiología. Investigadora Titular. Profesora Titular. Subdirectora de Microbiología.

⁴ Licenciado en Microbiología.

⁵ Técnica en Procesos Biológicos.

⁶ Técnica en Farmacia.

su utilidad en esta entidad, en la shigelosis se han empleado clásicamente la ampicilina, el cotrimoxazol y la tetraciclina, a las cuales las cepas han demostrado alta resistencia transmitida por plásmidos R, que codifican los genes de multiresistencia que las hacen muy patógenas.² En este estudio se propuso la caracterización de cepas de *Shigella boydii* 14 aisladas de pacientes con EDA mediante sus plásmidos de resistencia y de las proteínas de la membrana externa presentes en ellas.

MÉTODOS

Se estudiaron 14 cepas de *Shigella boydii* 14 aisladas de un brote ocurrido en la provincia de Camagüey en el mes de julio de 1997 y remitidas por el Centro Provincial de Higiene y Epidemiología al Laboratorio Nacional de Referencia de EDA del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Las cepas fueron comprobadas bioquímica y serológicamente para verificar si pertenecían a este serotipo.

Se les realizó la determinación de la susceptibilidad antimicrobiana por el método de concentración mínima inhibitoria (CMI)² y a las cepas que resultaron multiresistentes a las drogas de elección se les realizó la extracción de plásmidos R según Manaitis,³ los extractos proteicos de las cepas se realizaron según el método de Blaser modificado,⁴ las proteínas de la membrana externa fueron separadas por SDS-PAGE por el método de Laemmli⁵ con un gel concentrador al 5 % de acrilamida y un gel separador al 10 %, para conocer los patrones relacionados con el serotipo de *Shigella boydii* 14.

RESULTADOS

Se comprobó que el 100 % de las cepas resultaron resistentes a la ampicilina, 70 %

resistentes a la tetraciclina, y 50 % al cotrimoxazol, fueron sensibles al ácido nalidíxico y a la ciprofloxacina (tabla).

TABLA. Susceptibilidad a las drogas de *Shigella boydii* 14

Drogas	Resistencia (%)	Sensibilidad (%)
Ampicilina	100	0
Trimeth-sulfamet	70	30
Tetraciclina	50	50
Acido nalidíxico	2	98
Ciprofloxacina	0	100

Al analizarse el perfil plasmídico de las cepas se observó la presencia de plásmidos al nivel de los 43; 23; 20; 5,6 y 1,2 kb en todas, lo que se corresponde con los plásmidos que codifican los genes de resistencia a las diferentes drogas estudiadas (fig.).

Se analizaron las proteínas de la membrana externa presentes en estas cepas y el perfil proteico de éstas demostró diferencias con otras especies de *Shigella* al observarse bandas a los niveles de 38, 34 y 29 kD.

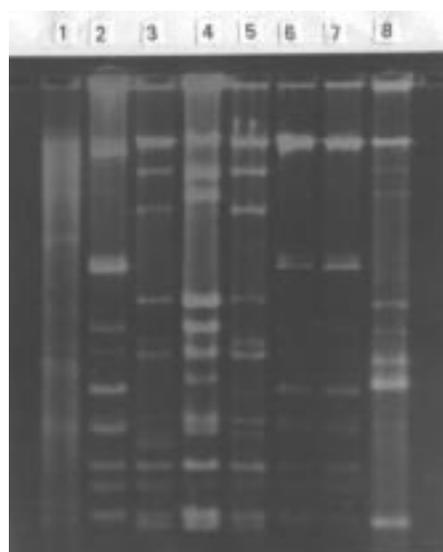


Fig. Perfil plasmídico de las cepas de *Shigella boydii* 14. Columna 1: patrón de peso molecular, Fago Lambda Hind III. Columnas 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8: cepas de *Shigella boydii* 14 con bandas de plásmidos de 43; 23; 20; 5,6 y 1, 2 kb.

DISCUSIÓN

Este serotipo de *Shigella* se aísla por primera vez en nuestro país a partir de pacientes con enfermedad diarreica aguda, por lo que la multirresistencia a las drogas y la presencia de plásmidos R las hace muy patógenas, pues es conocido que éstos son transferidos fácilmente de una enterobacteria a otra y esto podría dar lugar a la aparición de nuevos brotes de *Shigella boydii* 14 con cepas muy resistentes a las drogas de elección. Este serotipo es aislado con poca frecuencia en otros países y los brotes reportados han sido también resistentes al tratamiento de elección.⁶

Las diferencias observadas en el comportamiento electroforético de las

proteínas de la membrana externa de *Shigella* permite establecer una diferenciación entre especies y puede utilizarse como un instrumento más en la caracterización de un brote por un nuevo serotipo como es el caso de *Shigella boydii* 14 en Cuba.

La caracterización de este brote es importante epidemiológicamente debido a que este serotipo es de difícil diagnóstico, ya que una de sus características bioquímicas es la producción de gas lo que hace que sea atípica para *Shigella*. Su aislamiento por primera vez en la provincia de Camagüey indica que esta cepa comienza a circular en nuestro país y si no se tiene presente puede escapar al diagnóstico microbiológico.

SUMMARY

The characterization of strains of *Shigella boydii* isolated from patients with acute diarrheal disease by resistance to plasmids, and of the proteins of the outer membrane that appear in these strains was suggested. The antimicrobial susceptibility was determined by the minimum inhibitory concentration method, and the extraction of plasmids R. According to Manaitis, the protein extracts of the strains were obtained by the modified method of Blaser, whereas the proteins of the outer membrane were separated by SDS-PAGE, using the Laemmli's method. It was proved that the strains were resistant to ampicillin (100 %), tetracycline (70 %) and cotrimoxazole (50 %), and sensitive to nolidixic acid and to ciprofloxacin. Plasmids were observed at the level of 43; 23; 20; 5.6 and 1.2 kb. The proteins of the outer membrane and the protein profile proved to be different from other species of *Shigella*. This serotype of *Shigella* was isolated for the first time in Cuba and its characteristics make it highly pathogenic and very difficult to be diagnosed. That's why, the characterization of this outbreak is important from the epidemiological point of view.

Subject headings: SHIGELLA BOYDII/isolation & purification; DYSENTERY, BACILLARY; R FACTORS/analysis; BACTERIAL OUTER MEMBRANE PROTEINS/analysis; CUBA.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rahman S. Shigellosis a continuing global problem proceedings of International Conferences Cox's. ICDDR B Special publication No.20 1981.
2. Vila J, Gascón J, Abdalla S, Gómez J, Marco F, Moreno A. Antimicrobial resistance of *Shigella* isolates causing traveler's diarrhoea. Antimicrob Agents Chemother 1994;38(11):2668-70.
3. Manaitis T, Frish EF, Sambrook J. Molecular Cloning A Laboratory Manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1989:9-31.
4. Blaser MJ, Hopkins JA, Berka RM, Vasil ML, Wang WL. Identification and characterization of *Campylobacter jejuni*. Microbiol Meth 1995;21(1):276-84.

5. Smith BJ. SDS Polyacrilamide Gel Electrophoresis of practics. En: Walker JM. Methods in Molecular Biology. Basic protein and Peptide Protocols Humans Press Inc. Totowa, NJ: Times Mirror Publisher, 1994; Vol 32:34.
6. Gurgui Ferrer M. Infecciones por Shigella En: Farreras Valenti PY, Rozman C. Medicina Interna. 13 ed. Edit. Mosby/Doyma Libros SA. Times Mirror International Publisher, 1995;vol 2:67-9.

Recibido: 21 de mayo de 1998. Aprobado: 4 de febrero de 1999.

Dra. *Margarita Ramírez Álvarez*. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Apartado 601, Marianao 13, Ciudad de La Habana, Cuba.