

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

Perfil plasmídico y resistencia antimicrobiana en cepas de *Shigella* aisladas en Cuba

Dra. Margarita Ramírez,¹ Dra. Neysi Valdés,² Lic. Laura Bravo³ Téc. Anabel Fernández⁴ y Téc. Nelsydeismi Castañeda⁵

RESUMEN

Se investigó un total de 240 cepas de *Shigella*, procedentes de los Centros Provinciales de Higiene y Epidemiología, durante el período de enero a diciembre de 2002. Estas especies constituyen los microorganismos aislados con mayor frecuencia de infecciones diarreicas agudas en los países en vías de desarrollo y en Cuba. Mediante el estudio de diferentes marcadores fenotípicos y genotípicos como: serotipaje, estudios de resistencia a drogas antimicrobianas y perfil plasmídico, se investigó la relación epidemiológica de las cepas en estudio. Los serogrupos predominantes fueron: *S. flexneri* 142 (59 %) y *S. sonnei* 76 cepas (32 %). El comportamiento de la susceptibilidad antimicrobiana mostró 79,2 % de cepas resistentes. Al analizar el comportamiento de *S. flexneri* según la región de origen, el perfil de resistencia y el perfil plasmídico se realizaron 2 agrupamientos y en el serogrupo *S. sonnei* se encontraron 5 agrupamientos. Los resultados obtenidos demuestran la heterogeneidad genética en las cepas de *Shigella* que circulan en el país.

Palabras clave: *Shigella*, perfil de resistencia, perfil plasmídico.

La cifra anual de infecciones causadas por el género *Shigella* en todo el mundo es de 164 700 000, de los cuales 163 200 000 se producen en los países en desarrollo y 1 500 000 de casos en los países industrializados. En total, 69 % de todas las infecciones y 61 % de todas las defunciones atribuidas a shigelosis afectan a menores de 5 años.^{1,2}

En los últimos 50 años, *Shigella* ha demostrado una extraordinaria capacidad para adquirir resistencia, codificada por plásmidos, a los antibióticos que antes constituían el tratamiento de primera línea. Al principio las sulfamidas, la tetraciclina, la ampicilina y el trimetoprim/sulfametoxazol, eran fármacos muy eficaces, pero esta ha ido disminuyendo ante la aparición de cepas multirresistentes.^{3,4}

El análisis de los patrones plasmídicos ha sido útil para la caracterización de cepas de *Shigella* sp. que albergan plásmidos; la identificación de estos es útil mientras exista una cantidad mínima de presión selectiva en el medio ambiente, la que puede provocar una ganancia; una pérdida de estos hace que sean inestables, no obstante, constituye un potente método en el estudio de marcadores epidemiológicos.^{4,5}

En los estudios sistemáticos de vigilancia de la susceptibilidad a las drogas antimicrobianas realizados en el Laboratorio Nacional de Referencia de Enfermedades Diarreicas Agudas (LNR EDA) del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK), durante la última década, se ha comprobado el incremento de la resistencia en las cepas de

¹ Especialista de II grado en Microbiología. Investigadora Agregada. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK).

² Especialista de I grado en Microbiología. Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CENIC).

³ Licenciada en Biología. Doctora en Ciencias de la Salud. Investigador Auxiliar. IPK.

⁴ Técnica en Farmacia. IPK.

⁵ Técnica en Procesos Biológicos. IPK.

Shigella, sobre todo a drogas como ampicilina, trimetoprim/sulfametoxazol, tetraciclina, cloranfenicol y han comenzado a surgir cepas resistentes al ácido nalidíxico.^{6,7}

En los últimos años se ha adquirido cada vez más conciencia de la enorme repercusión de *Shigella* como patógeno intestinal y de las devastadoras consecuencias que podrían derivarse de un ritmo de aparición de cepas multirresistentes, que desbordase la disponibilidad de tratamientos antibióticos accesibles y eficaces.⁸ Por este motivo se decidió investigar la susceptibilidad antimicrobiana y el perfil plasmídico en un grupo de cepas de *Shigella* aisladas en Cuba, para conocer el comportamiento epidemiológico de este microorganismo en el medio cubano.

MÉTODOS

Se seleccionaron mediante un muestreo simple aleatorio 240 cepas de *Shigella* enviadas al LNR –EDA del IPK, procedentes de los Centros Provinciales de Higiene y Epidemiología del país, durante el período enero-diciembre de 2002. Estas cepas fueron aisladas de heces diarreicas de niños menores de 5 años. Para el análisis de la situación en Cuba se agruparon las provincias en 3 regiones: Occidente, Centro y Oriente; 82 de las cepas provenían de la región Occidental, 49 fueron aisladas en el centro del país y 109 de la región oriental.

SEROTIPAJE

Para realizar el serotipaje las cepas se cultivaron en medio de agar soya trypticasa y las reacciones serológicas se determinaron por la técnica de aglutinación en láminas, utilizándose antisueros de la casa Comercial *Murex Diagnostic*.⁹

PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA

La determinación de la susceptibilidad antimicrobiana se realizó por el método de difusión en discos en agar (Kirby-Bauer),¹⁰ empleando 11 drogas antimicrobianas (recomendadas por el Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico [NCCLS] para la familia *Enterobacteriaceae*:¹¹ ampicilina AM [10 µg],

ampicilina/sublactam, SAM [30 µg]; amoxicilina/ácido clavulánico, AML [30 µg]; ceftriaxona, CRO [30 µg]; aztreonam, ATM [30 µg]; gentamicina, CN [10 µg]; ciprofloxacina CIP, [5 µg]; tetraciclina, TE [30 µg]; ácido nalidíxico, NA [30 µg]; trimetoprim-sulfametoxazol, SXT [25 µg]; y cloranfenicol, C [30 µg]). Se utilizaron como cepas controles: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

EXTRACCIÓN DEL ADN PLASMÍDICO

Se seleccionaron para el análisis de los perfiles plasmídico, aquellas cepas que mostraron resistencia a 3 antimicrobianos o más (multidrogoresistentes) y por un muestreo simple aleatorio, se escogieron 30 cepas de *S. flexneri* y 20 cepas de *S. sonnei*. No se escogieron cepas de otros serotipos por su pobre representación estadística en la muestra estudiada. Se utilizó el método de lisis alcalina de Kado y Liu.¹² Los plásmidos obtenidos fueron visualizados y analizados en electroforesis en gel de agarosa 0,8 %. El peso molecular de los plásmidos fue determinado por el método de la curva logarítmica de regresión lineal.¹³ El poder de discriminación para el análisis del perfil plasmídico fue determinado por el índice de diversidad de Simpson (D).¹³

PROCESAMIENTO ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó al aplicar la prueba de chi cuadrado (X^2), las pruebas F de Fisher y de Duncan a 5 %, las cuales permitieron establecer la asociación entre las variables analizadas, las diferencias entre las proporciones obtenidas así como la relación entre estas.

RESULTADOS

Distribución de los serogrupos de Shigella

De las 240 cepas analizadas, la mayoría correspondió a *S. flexneri* (142 cepas), para 59 %, difiriendo significativamente ($p < 0,001$) este porcentaje con respecto a los mostrados por los

otros serogrupos encontrados: *S. sonnei* (76 cepas) fue el siguiente en frecuencia con 32 % y difirió significativamente ($p < 0,001$) de los demás serogrupos, le siguieron *S. dysenteriae* (12 cepas), con 5 % y *S. boydii* (10 cepas), con 4 %.

Comportamiento de las infecciones por Shigella en función del serogrupo y resistencia antimicrobiana según las diferentes regiones del país

Como se aprecia en la tabla 1, se obtuvieron esos resultados al analizar la distribución de los serogrupos de *Shigella* por regiones del país; se detectaron diferencias altamente significativas ($p < 0,001$) al aplicar las pruebas de Fisher y las pruebas de Duncan a 5 %, en las proporciones presentadas por los serogrupos A (*Shigella dysenteriae*), B (*Shigella flexneri*), C (*Shigella boydii*) y D (*Shigella sonnei*) en las diferentes regiones del país; se mostró que el serogrupo A fue más frecuente en el Centro y el serogrupo D en las regiones de Occidente y Oriente. El serogrupo B no presentó diferencias estadísticamente significativas (ns) en cuanto a su distribución por las regiones del país.

Análisis de la susceptibilidad antimicrobiana.

Los resultados del comportamiento de la resistencia antimicrobiana de las cepas estudiadas, distribuidas por serogrupos y por regiones del país, se muestran en la tabla 2. Las cepas correspondientes al serogrupo B, mostraron altos porcentajes de resistencia específicamente en la región oriental (61 %), al igual que las del serogrupo D, 32 % en Occidente y 27 % en Oriente. La resistencia de las cepas de los serogrupos A y C no mostró cifras significativas.

Fenotipos de resistencia

Se detectó un total de 28 patrones de resistencia en las 190 cepas de *Shigella* multirresistentes. En la tabla 3 se muestran los 9 patrones que se encontraron en mayor proporción en estas cepas.

Perfil plasmídico

De las cepas analizadas de *Sh. flexneri* y *Sh. sonnei*, en 100 % se detectaron plásmidos. Los perfiles plasmídicos presentados en estas

TABLA 1. Distribución de los serogrupos de *Shigella* por regiones del país

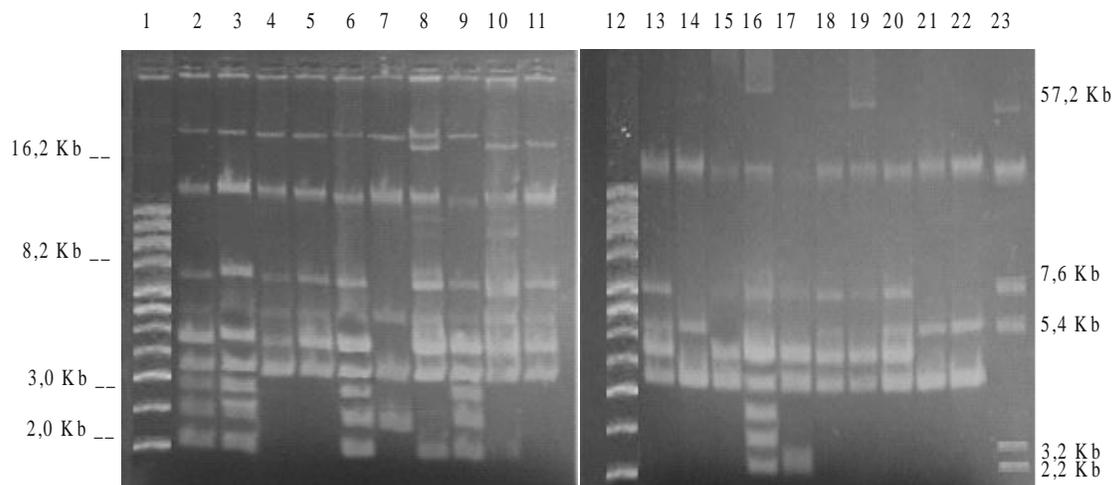
Serogrupos	Regiones			F
	Occidente %	Centro %	Oriente %	
A	1 (1,3)b	9 (18,4)a	2 (1,9)b	11,60 ($p < 0,001$)
B	46 (56,1)a	31 (63,2)a	65 (59,6)a	0,34 ns
C	0 (0)b	5 (10,2)a	5 (4,5)ab	4,04 ($p < 0,05$)
D	35 (42,6)a	4 (8,2)b	37 (33,9)a	8,68 ($p < 0,001$)

Nota: Proporciones con letras comunes no difieren significativamente según prueba de Fisher.

TABLA 2. Comportamiento de la resistencia antimicrobiana de los serogrupos de *Shigella* según las regiones del país

Serogrupo	Occidente	Centro	Oriente	F
	Resistentes %	Resistentes %	Resistentes %	
A	0 (0,0)b	3 (6,1)a	1 (0,92)b	3,85 ($p < 0,05$)
B	30 (36,6)b	26 (53,1)b	61 (55,9)a	3,75 ($p < 0,05$)
C	0 (0,0)a	3 (6,1)a	5 (4,6)a	2,27 ns
D	32 (39,02)a	2 (4,08)b	27 (24,8)a	9,90 ($p < 0,001$)

Nota: proporciones con letras comunes no difieren significativamente según prueba de Fisher.



Líneas 1 y 12, marcador de peso molecular (supercoiled DNA ladder, GIBCO-BRL, invitrogen). Líneas 2, 3, 6, 9 y 16, perfil plasmídico B I. Líneas 4, 5, 10, 11, 13 y 20, perfil plasmídico B II. Línea 7, perfil plasmídico B III. Líneas 8 y 17, perfil plasmídico B IV. Líneas 13, 21 y 22, perfil plasmídico B V. Líneas 15, 18 y 19, perfil plasmídico B VI, línea 23 cepa control *Escherichia coli* V157 con plásmidos con rango de PM entre 2,1 a 57,2 Kb.

Fig. 1. Perfiles plasmídicos de cepas de *S. flexneri*

TABLA 3. Patrones de resistencia antimicrobiana más frecuentes mostrados por las cepas de *Shigella* multirresistentes encontradas en nuestro estudio

Patrones de resistencia	Nº de cepas	%
S, TE, SXT	71	37,4
AM, SAM, AML, S, TE, SXT, C	24	12,7
AM, SAM, AML, S, TE, SXT	18	9,5
S, TE, NA, SXT	13	6,9
AML, S, TE, SXT	8	4,3
AM, SAM, AML, TE, SXT	7	3,7
AM, SAM, AML, TE, SXT, C	6	3,2
AM, AML, S, TE, SXT, C	5	2,6
AM, AML, S, TE, SXT	5	2,6

AM: ampicilina, TE: tetraciclina, SXT: trimetoprim-sulfametoxazol, SAM: ampicilina-sulbactam, S: estreptomina, C: cloranfenicol, NA: ácido nalidíxico, AML: amoxicilina-ácido clavulánico.

especies fueron excluyentes y se asociaron a 17 fenotipos de resistencia.

Análisis del perfil plasmídico de *S. flexneri*

En las 30 cepas de *S. flexneri* estudiadas, fueron obtenidos 6 perfiles plasmídicos diferentes (fig. 1). Estos perfiles contenían entre 2 y 7 plásmidos con tallas en un rango de 2 a 16 Kb. Se encontró una alta variabilidad del perfil plasmídico (1-3 plásmidos) en este rango. Los perfiles plasmídicos en su mayoría estuvieron presentes en

más de una cepa excepto el perfil B III, representado en una sola cepa. El índice de diversidad de Simpson (ID) para esta técnica fue de 0,85.

Al realizar el análisis de los perfiles plasmídicos (tabla 4), se observó que, las cepas con los perfiles B I, II y IV procedían de las 3 regiones del país, los perfiles B V y VI, encontrados en cepas procedentes de Centro y Oriente. Al relacionar los fenotipos de resistencia mostrados por las cepas se encontró que cada perfil plasmídico tenía entre 2 y 5 patrones de resistencia diferentes (excepto en el perfil III) y que estos no eran excluyentes.

Análisis del perfil plasmídico de *S. sonnei*

Fueron detectados 8 perfiles plasmídicos diferentes (fig. 2) denominándose como D-I, D-II, D-III, D-IV, D-V, D-VI, D-VII y D-VIII, cada uno albergó entre 2 y 8 plásmidos con tallas en un rango de 2 a 16 Kb. Se encontró una alta variabilidad del perfil plasmídico (de 1 a 3 plásmidos) en este rango. Los perfiles plasmídicos estuvieron presentes en más de una cepa, exceptuando los patrones D-III, VI, VII y VIII. El índice de diversidad de Simpson (ID) para esta técnica fue de 0,86.

TABLA 4. Perfiles plasmídicos de las 30 cepas de *S. flexneri* analizadas y su relación con los patrones de resistencia y la región de origen de las cepas

Perfil plasmídico	Total de cepas	Cepas	Región de origen	Fenotipo de resistencia
I	6	1	A	II
		14	B	I
		5, 8	A	IX
		2, 25	A / C	XVI
II	7	10	B	VI
		4, 9	A / C	IX
		3, 11	A / B	X
		18, 22	C	XII
III	1	6	A	X
IV	3	7	A	XIV
		15, 27	B / C	X
V	7	23	C	VII
		12, 19	B / C	IX
		20, 28-30	C	X
VI	6	13	C	V
		16, 17	B / C	X
		26	C	XI
		21	C	XII
		24	C	XIII

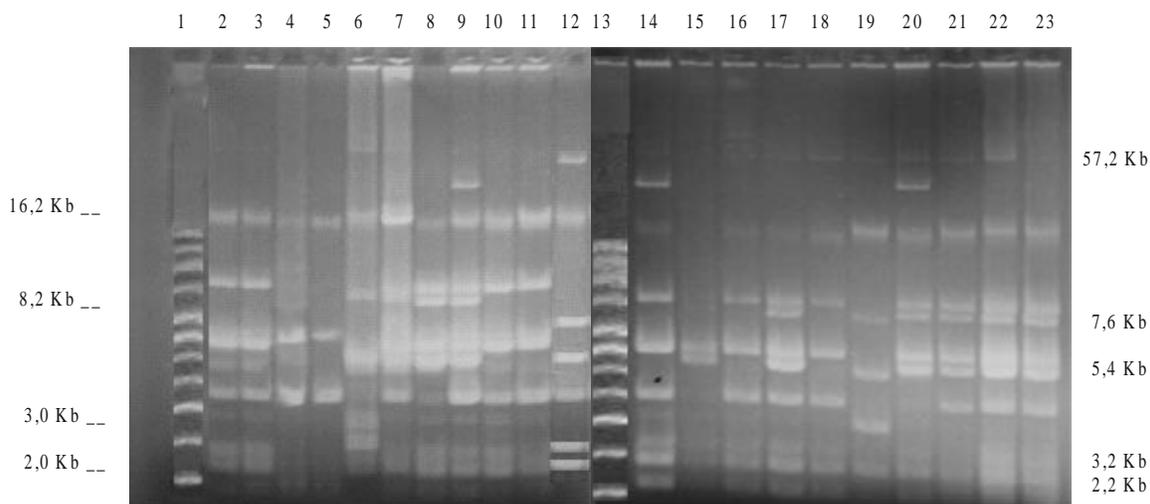
TABLA 5. Perfiles plasmídicos de las 20 cepas de *S. sonnei* analizadas y su relación con los patrones de resistencia y la región de origen de las cepas

Perfil plasmídico	Total de cepas	Cepas	Región de origen	Fenotipos de resistencia
I	7	31, 32, 39, 40, 41, 43, 45	A (4) / C (3)	XVI
II	2	33, 34	A	III
III	1	35	A	XV
IV	5	36, 38	A	XVI
		48, 49, 50	C	XV
V	2	37, 47	A / C	XVI
VI	1	42	C	XVI
VII	1	44	C	XV
VIII	1	46	C	XVI

Al realizar el análisis de los perfiles plasmídicos (tabla 5), se observó que en el caso de los perfiles D I, D IV y D V, las cepas que los presentaron procedían del Occidente y el Oriente del país, los perfiles DII y DIII estuvieron representados por cepas de la región occidental, mientras que los perfiles DVI, DVII y DVIII, se encontraron solamente en el Oriente del país. Al relacionar los fenotipos de resistencia mostrados por las cepas se encontró que con excepción del perfil DVI, que tiene 2 patrones de resistencia, el resto de los perfiles plasmídicos presentaron un solo patrón de resistencia por perfil. Basándose en el perfil plasmídico, en el patrón de resistencia y en la región de origen de las cepas se realizaron 5 agrupamientos.

DISCUSIÓN

La estimación exacta del comportamiento de las infecciones por *Shigella*, en países desarrollados o en vías de desarrollo, tiene 2 importantes dimensiones: una dimensión clínica, que proviene de la magnitud de la morbilidad y mortalidad atribuibles a este patógeno y una dimensión epidemiológica condicionada por la distribución de los serogrupos y serotipos en diferentes áreas geográficas.³ El principal serogrupo de *Shigella* que circula en una comunidad, parece estar relacionado con el nivel socioeconómico. La mayoría de los aislamientos (60 %) de *Shigella* en los países en vías de desarrollo corresponde a *S. flexneri*, *S. sonnei*.¹⁴ Los serogrupos



Líneas 1 y 13, marcador de peso molecular (supercoiled DNA ladder, GIBCO-BRL, invitrogen). Líneas 2, 3, 10, 11, 14, 16 y 18, perfil plasmídico D I. Líneas 4 y 5, perfil plasmídico D II. Línea 6, perfil plasmídico D III. Líneas 9, 21,22,23, perfil plasmídico D IV. Líneas 8 y 20, perfil plasmídico D V. Línea 15, perfil plasmídico D VI. Línea 17, perfil plasmídico D VII y Línea 19, perfil plasmídico D VIII. Línea 12 cepa control *Escherichia coli* V157 con plásmidos con rango de PM entre 2,1 a 57,2 Kb.

Fig. 2. Perfiles plasmídicos de cepas de *S. sonnei*.

encontrados en este estudio coinciden con lo publicado en la literatura para los países de América Latina, Asia y África.¹⁴

Entre los marcadores fenotípicos, el serotipaje es uno de los métodos clásicos de tipificación de cepas. Tiene gran importancia desde el punto de vista epidemiológico para los estudios de vigilancia porque permite determinar la prevalencia de serovariedades en diferentes zonas geográficas, ya sea en estudios de brotes o de casos esporádicos.¹⁵

En cuanto a los porcentajes de resistencia mostrados por los serogrupos de *Shigella* en las diferentes regiones del país, de acuerdo con su distribución por regiones, la prevalencia de distintos serogrupos, pudiera estar determinada por factores sociales, ambientales y microbiológicos. Dentro de estos aspectos se incluyen: aumento de las poblaciones de hospederos susceptibles, viajes internacionales, el turismo y el comercio, entre otros.¹⁵

La resistencia bacteriana a los antimicrobianos continúa siendo un serio y creciente problema en todo el mundo, especialmente para los países en vías de desarrollo donde muchos factores contribuyen a engendrar, desarrollar y extender esta

situación. Los datos del comportamiento de la susceptibilidad a los antimicrobianos, desafortunadamente son escasos y no todos los países pueden monitorear la resistencia.^{14,16}

Hoy día, el principal problema asociado con la shigelosis es indudablemente su tratamiento, esta es una de las infecciones entéricas donde el uso de antimicrobianos está ampliamente recomendado y aceptado, teniendo en cuenta que la terapia antimicrobiana adecuada, acorta la duración y severidad del cuadro diarreico, reduce el tiempo de transmisibilidad del agente infeccioso (excreción) y también reduce las complicaciones potenciales, sobre todo en niños y ancianos.^{8,9}

De acuerdo con los resultados de este trabajo, un alto porcentaje de las cepas analizadas fueron multirresistentes, lo que coincide con estudios realizados en Cuba, durante la última década, por *Ramírez* y otros, donde aproximadamente 70 % de las cepas analizadas fueron resistentes a los antimicrobianos de primera línea.^{6,7} Es importante destacar que la ínfima resistencia a quinolonas y cefalosporinas, puede ser debido a que son antibióticos de nueva generación, que no han tenido un uso indiscriminado por la población cubana.^{6,7}

Dentro de las cefalosporinas, la ceftriaxona constituye un recurso eficaz, en la actualidad su uso en el tratamiento de la shigelosis multirresistente o complicada está muy difundido.⁸ Los resultados de este estudio se corresponden con lo reportado por autores de diferentes países como Brasil, Bolivia, Argentina, Colombia y Ecuador (Foodborne and Diarrheal Diseases Branch. *Shigella* surveillance: annual tabulation summaries, 1993-1995 and 1996. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control, National Center for Infectious Diseases, Division of Bacterial and Mycotic Diseases, Foodborne and Diarrheal Diseases Branch, 1996 and 1997, respectively).^{17,18}

Altos porcentajes de resistencia de *S. sonnei* a agentes antimicrobianos de primera línea como ácido nalidíxico, trimetoprim-sulfametoxazol, tetraciclina y ampicilina, han sido reportados en el mundo. En América, se destacan estudios realizados en países como EE. UU., Argentina y Chile que informan índices elevados de resistencia frente a estos antimicrobianos.^{15,17}

Los patrones de resistencia detectados en este estudio en las cepas de distintos serogrupos se corresponden con el comportamiento observado por otros autores como Lima y otros, Prado y otros, Suárez y otros en investigaciones realizadas en Brasil, Chile y Argentina, respectivamente.^{17,18}

Por causa de que los patrones de resistencia antimicrobiana cambian constantemente, es importante mantener un monitoreo continuo de la susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de *Shigella*, para poder guiar de manera adecuada el tratamiento empírico de los cuadros diarreicos en cada región. La identificación de nuevos o inusuales patrones de resistencia antimicrobiana de cepas aisladas de muchos pacientes es a veces el primer indicio de un brote epidémico.^{2,14,15}

El análisis de las cepas de *S. flexneri* y *S. sonnei* incluidas en este estudio, estuvo basado en los perfiles plasmídicos, el patrón de resistencia antimicrobiana y la región de origen de las cepas. La determinación del perfil plasmídico ha sido el método más ampliamente utilizado para la investigación epidemiológica de cepas de casos esporádicos y de brotes, producidos por *Shigella* sp. Por otra parte este resulta un método económico y

rápido, pero, el hecho de que muchos plásmidos son inestables y que pueden perderse o ganarse por la presión selectiva de los antibióticos, puede ser una limitante para el uso de esta técnica. *Shigella* sp. usualmente alberga una heterogénea población de plásmidos (entre 2 a 10).¹⁷⁻¹⁹

Los resultados de este trabajo concuerdan con los obtenidos por Vila J y otros en 1999¹⁶ en un estudio de caracterización y tipaje de cepas de *Shigella* sp., donde se estudiaron 78 cepas de *S. flexneri* y 4 cepas de *S. sonnei*, encontrándose 8 y 2 perfiles plasmídicos respectivamente y sobre la base de la susceptibilidad antimicrobiana se definieron 6 fenotipos de resistencia.¹⁶

En los perfiles plasmídicos detectados en *S. flexneri* se comprobó una gran variabilidad en los patrones de resistencia asociados a estos, así como poca relación con la región de origen de las cepas. Resultados que concuerdan con los obtenidos por Cabrera y otros en Cuba en el año 2002, donde se estudiaron 20 cepas de *S. flexneri*, procedentes de 9 provincias del país, encontrándose 11 perfiles plasmídicos diferentes que no guardaban relación con los patrones de resistencia asociados.¹⁴ Estudios similares se reportan por Lima y otros en Fortaleza, Brasil, los cuales realizaron un estudio de perfil plasmídico, demostrando la gran variedad de perfiles plasmídicos y patrones de resistencia existentes en el área. Otros estudios realizados por Tornes y otros en 1997 reportan analizando 168 casos de shigelosis, que 70 cepas de *Shigella sonnei* fueron ubicadas dentro de 7 perfiles diferentes.¹⁷ En ninguno de los estudios antes mencionados se encontró asociación de los perfiles plasmídicos con los perfiles de resistencia. Lima y otros, en 1997, encontraron que la mayoría de las cepas tenían idéntico o casi idéntico perfil plasmídico, y ponen de manifiesto que *Shigella sonnei*, con igual perfil plasmídico puede ser encontrada dentro de una amplia distribución geográfica.¹⁸ Estos resultados concuerdan con los obtenidos aquí porque algunos de los perfiles detectados para *Shigella sonnei*, estuvieron distribuidos por las regiones de Occidente y Oriente.

La diversidad de fenotipos de resistencia mostrados por las cepas pudiera deberse a que la resistencia esté siendo mediada por plásmidos y además por integrones o transposones que estén

incorporados al cromosoma bacteriano y que confieren también resistencia a múltiples antimicrobianos.¹⁹

SUMMARY

240 *Shigella* strains from the Provincial Centers of Hygiene and Epidemiology were investigated from January to December, 2002. These species are the isolated microorganisms with the highest frequency of acute diarrheal infections in the developing countries and in Cuba. By the study of different phenotypic and genotypic markers as serotyping, studies of resistance to antimicrobial drugs and plasmidic profile, the epidemiological relation of the strains under study was analyzed. The predominating serogroups were: 142 *S. flexneri* (59 %) and 76 *S. sonnei* strains (32 %). The antimicrobial susceptibility behavior showed 79.2 % of resistant strains. The resistance phenotypes most frequently found were: streptomycin, trimethoprim-sulfamethoxazole: 71 (37.4 %); ampicillin, ampicillin-sulbactam, tetracycline, trimethoprim-sulfamethoxazole, chloramphenicol: 24 (12.7 %); ampicillin, ampicillin-sulbactam, streptomycin, tetracycline, amoxicillin-clavulanic acid, trimethoprim-sulfamethoxazole: 18 (9.5%). The plasmidic profiles detected in the *S. flexneri* serogroup were 6. Each profile contained between 2 and 7 plasmids and they were excluding. The diversity index was (ID 0.85), whereas in the *S. sonnei* serogroup there were 8 different profiles. Each one had between 2 and 8 plasmids with ID (0.86). On analyzing the behavior of *S. flexneri* according to the region of origin, the resistance profile and the plasmidic profile, 2 groupings were created and 5 groupings were found in the *S. sonnei* serogroup. The results obtained showed the genetic heterogeneity in the *Shigella* strains that circulate in the country.

Key words: *Shigella*, resistance profile, plasmidic profile

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- López Brea M, Sanz JC, Usera MA, Reina J, Cardeñoso L, Vasallo F. 7. Gastroenteritis bacterianas, víricas, parasitarias y toxoinfecciones alimentarias. En: Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, España, 1994.
- Lima A, Lima N. Epidemiology, therapy, and prevention of infection with *Shigella* organism and *Clostridium difficile*. *Curr Op Microbiol Infect Dis* 1993;6:63-71.
- Klotoff KL, Winickoff JP, Ivanoff B, Clemens JD, Swerdlow DL et al. Global burden of *Shigella* infections: Implications for vaccine development and implementation. *Bull WHO* 1999;77(8):651-66.
- Eisenstein BI. Molecular Techniques for Microbial Epidemiology and the Diagnosis of Infectious Disease. *J Infect Dis* 1990;161:595-602.
- Marco F, Jiménez de Anta MT. Métodos de tipificación: análisis de plásmidos. Ventajas e inconvenientes. *Enferm Infec Microbiol Clin* 1993;11(2):97-101.
- Llop A, Tamargo I, Pérez M, Toraño G, Ramírez M, Bravo L, et al. Antimicrobial resistance and microbiological surveillance in Cuba. En: Salvatierra-González R, Benguigui Y, eds. Antimicrobial resistance in the Americas: magnitude and containment of problem. Washington, DC: Pan American Health Organization; 2000. p. 111-18.
- Ramírez MM, Bravo L, García B, Monté R. Estudio de la susceptibilidad de cepas de *Shigella* aisladas de niños con enfermedad diarreica aguda. *Enferm Inf Microbiol* 1996;16(2):112-5.
- Saurina G, Quale JM, Manikal VM. Antimicrobial resistance in Enterobacteriaceae in Brooklyn, NY: epidemiology and relation to antibiotic usage patterns. *J Antimicrob Chemother* 2000;45:895-8.
- Chin J. El control de las enfermedades transmisibles. 17a ed. Washington DC: OPS; 2001. p. 566-71.
- Bauer AW, Kirby WMM, Sherman TS, Turck M. Antibiotic Susceptibility Testing by Standardized single disk method. *Am J Clin Path* 1996;45(4):494-5.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Eight Informational Supplement. M 100-S 10(M2). 2000. p.14-21.
- Kado CI, Liu ST. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J Bacteriol* 1981;145:1365-73.
- Hunter PR, Gaston MA. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. *J Clin Microbiol* 1988;26:2465-6.
- Herrera S, Cabrera R, Ramírez MM, Usera MA, Echeíta A. Use of AFLP, plasmid typing and phenotyping in a comparative study to assess genetic diversity of *Shigella flexneri* strains. *Epidemiol Infect* 2002;129:1-6.
- Guerrant RL, Hughes JM, Lima J. Crane. Diarrhea in developing countries: magnitude, special setting and etiologies. *Rev Infect Dis* 1999;Suppl 1:S41
- Sosa A, Vila J. Infectious disease management in Latin America: a project report. *APUA Newsletter* 1999;17(2).
- Lima AA, Lima N, Pinho M, Barros E, Teixeira M, et al. High frequency of strains multiply resistant to ampicillin, trimethoprim-sulfamethoxazole, streptomycin, chloramphenicol and tetracycline isolates from patients with shigellosis in Northeastern Brazil during the period 1988-1993. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39(1):256-9.
- Townes JM, Quick R, Gonzales OY, Linares M, Damiani E, et al. Etiology of bloody diarrhea in Bolivian children: implication for empiric therapy. *J Infect Dis* 1997; 175:1527-30.
- Lima AA, Sidrim JJ, Lima NL, Titlow W, Evans ME, Greenberg RN. Molecular Epidemiology of multiple antibiotic-resistant *Shigella flexneri* in Fortaleza, Brazil. *J Clin Microbiol* 1997; 35 (5):1061-5.

Recibido: 27 de abril de 2004. Aprobado: 19 de octubre de 2004.
Dra. Margarita Ramírez. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourf". Autopista Novia del Mediodía Km 6 1/2, Apartado postal 601, Marianao 13, Ciudad de La Habana. Teléfs. 202-04-36 al 45.