

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE, CHACO, ARGENTINA

## Resistencia antimicrobiana de bacterias causantes de diarreas en niños de Corrientes, Argentina\*

Dra. Silvia E. Balbachán,<sup>1</sup> Dr. Luis A. Merino,<sup>2</sup> Dr. Daniel E. Merino,<sup>3</sup> Dra. Mariana Lorena Balbachán<sup>4</sup> y Dra. Olga A. Miranda<sup>5</sup>

### RESUMEN

Se recolectaron muestras de materia fecal de niños menores de 5 años con diarrea aguda, en Corrientes, Argentina, entre enero de 2004 y abril de 2005, se cultivaron en medios selectivos, se identificaron colonias sospechosas de *Salmonella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Shigella* o *Escherichia coli* O157 y se estudió la susceptibilidad antimicrobiana mediante difusión con discos. De 590 muestras 7,7 % fueron positivas (*Salmonella* spp. 32,6 % y *Shigella* spp. 67,4 %). Sobre 31 aislamientos de *Shigella*, 81 % correspondió a *S. flexneri*, y 19 % a *S. sonnei*. El serotipo 2 de *Shigella flexneri* fue el más frecuente. Las cepas de *S. flexneri* mostraron mayor multiresistencia que las de *S. sonnei*. Los serotipos de *Salmonella enterica* más frecuentes fueron *S. typhimurium* y *S. newport*. Dos aislamientos de *Salmonella* presentaron multiresistencia. El presente trabajo constituyó un aporte al conocimiento de la etiología de las gastroenteritis bacterianas en la región y alertó acerca del surgimiento de cepas enteropatógenas multiresistentes.

**Palabras clave:** Diarrea, bacterias enteropatógenas, resistencia antibiótica, Argentina.

Las enfermedades diarreicas constituyen un importante problema de salud pública en los niños de las regiones subdesarrolladas del mundo por causa de una serie de factores, entre ellos, altos costos por la gran demanda de atenciones ambulatorias y hospitalizaciones, además de ser causa importante de mortalidad infantil, especialmente por su relación con la desnutrición.<sup>1</sup>

Tanto en Argentina como en otros países de América las diarreas agudas constituyen enfermedades de elevada prevalencia que afectan, principalmente, a los niños menores de 5 años y pueden

ser causadas por una gran variedad de agentes patógenos, entre ellos virus (principalmente Rotavirus y virus Norwalk) y bacterias (*Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*, *Yersinia*, *Campylobacter*, *Aeromonas* y *Vibrio cholerae*).<sup>2-5</sup> Algunos enteropatógenos como *Shigella*, *Salmonella* y *Escherichia coli* generan importantes problemas de resistencia antimicrobiana y, por tanto, de control del tratamiento antibiótico.<sup>6</sup>

Con el presente trabajo se pretendió generar conocimientos sobre la etiología de las gastroenteritis bacterianas en la región y, mediante el aná-

\* Trabajo realizado gracias a subsidios de la Fundación "Alberto J. Roemmers".

<sup>1</sup> Médico. Especialista en Pediatría e Infectología. Investigadora. Instituto de Medicina Regional. Universidad Nacional del Nordeste (UNNE), Chaco, Argentina.

<sup>2</sup> Máster en Ciencias del Medio Ambiente y la Salud. Bioquímico. Especialista en Bacteriología Clínica. Investigador. Instituto de Medicina Regional. UNNE.

<sup>3</sup> Máster en Metodología de las Ciencias. Médico. Especialista en Clínica Médica e Infectología. Investigador. Instituto de Medicina Regional. UNNE.

<sup>4</sup> Médico Generalista. Centro de Salud SAPS "Dr. Malvido", Corrientes.

<sup>5</sup> Médico. Especialista en Infectología. Investigadora. Instituto de Medicina Regional. UNNE.

lisis de la sensibilidad antimicrobiana de las bacterias enteropatógenas más prevalentes, contribuir a optimizar la atención médica mediante la utilización racional de la medicación y de esta manera evitar la distorsión del gasto en salud pública.

## MÉTODOS

Entre enero de 2004 y abril de 2005 se realizó un estudio prospectivo. Se recolectaron muestras de heces de pacientes pediátricos provenientes de la consulta externa de Centros de Atención Primaria de la Salud (CAPS) de la municipalidad de Corrientes.

Se incluyeron todos los niños atendidos en el período mencionado que cumplieron con los criterios de inclusión siguientes: menores de 5 años de edad con episodios de diarrea aguda de menos de 72 h de evolución y sin tratamiento con antimicrobianos 72 h previas a la toma de las muestras.

Previo consentimiento informado del adulto acompañante de los niños, se recolectaron 590 muestras de materia fecal, las cuales fueron hisopadas y colocadas en medio de transporte Cary-Blair para su remisión al Laboratorio de Bacteriología del Instituto de Medicina Regional de la Universidad Nacional del Nordeste (Resistencia, Chaco, Argentina). Para el aislamiento inicial las heces fueron sembradas en agar *Salmonella-Shigella*, agar MacConkey, agar sangre, agar MacConkey-sorbitol y agar tiosulfato-citrato-sales biliares-sacarosa (TCBS); la identificación bioquímica de colonias sospechosas con bacterias enteropatógenas se llevó a cabo mediante pruebas clásicas.<sup>7</sup> La identificación serológica se realizó mediante aglutinación en láminas con antisueros específicos (División de Antisueros, Instituto de Enfermedades Infecciosas Humanas ANLIS "Carlos G. Malbrán").

La susceptibilidad a los antimicrobianos se determinó por el método de difusión con discos, según los criterios establecidos a la fecha por el Comité Nacional de Estándares de Laboratorios Clínicos (*The National Committee for Clinical Laboratory Standards* [NCCLS])<sup>8</sup> frente a ampicilina (10 mg), ampicilina/sulbactama (10/10 mg), cefalotina (30 mg), gentamicina (10 mg), ciprofloxacina (5 mg), ácido nalidíxico (30 mg), colistina (10 mg), fosfomicina (200 mg), tetraciclina (30 mg), furazolidona (100 mg), trimetoprima/

/sulfametoxazol (1,25/23,75 mg), neomicina (30 mg), cloranfenicol (30 mg), cefotaxima (30 mg) y sulfisoxazol (300 mg). Para el control de calidad se emplearon las cepas *Escherichia coli* ATCC 25922, *E. coli* productora de betalactamasa ATCC 35218, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Se consideró multirresistente al aislamiento que presentó resistencia a 2 antimicrobianos o más pertenecientes a diferentes familias.

El análisis estadístico consistió en la comparación mediante la prueba de chi cuadrado, y el nivel de significación estadística se fijó en 0,05.

## RESULTADOS

Sobre las 590 muestras procesadas se recuperaron bacterias enteropatógenas en 46 de ellas, lo cual corresponde a un índice de positividad del coprocultivo de 7,7 %.

Entre los 46 coprocultivos positivos se obtuvieron 15 (32,6 %) aislamientos de *Salmonella* spp. (*Salmonella* no *typhi*) y 31 (67,4 %) de *Shigella* spp. De estos últimos, 81 % (25 muestras) correspondieron a *S. flexneri* y 19 % (6 muestras) a *S. sonnei*. El serotipo de *S. flexneri* más frecuente fue el 2. No se obtuvieron aislamientos de *S. boydii* ni *S. dysenteriae*. Entre los serotipos de *Salmonella enterica* el más frecuente fue *S. typhimurium* (44,4 %) seguido de *S. newport* (33,3 %); los demás aislamientos correspondieron a *S. enteritidis* (2 cepas) y a *S. kottbus* (1 cepa). No se obtuvieron aislamientos de *Escherichia coli* 0157, *Vibrio cholerae* ni *Aeromonas* spp.

En general la resistencia encontrada de *S. flexneri* a los antibióticos estudiados fue mayor que la de *S. sonnei* (tabla 1). Esta diferencia fue estadísticamente significativa ( $p < 0,001$ ) para los antibióticos ampicilina, ampicilina/sulbactama, tetraciclinas y cloranfenicol. Las cepas de *S. flexneri* mostraron, además, mayor multirresistencia que las de *S. sonnei*.

Entre los aislamientos de *Salmonella enterica*, 2 presentaron multirresistencia; una cepa de *Salmonella enterica* serotipo Newport resistente a ampicilina, cloranfenicol y cefalosporinas de tercera generación y una cepa de *Salmonella enterica* serotipo Kottbus resistente al ácido nalidíxico y neomicina (tabla 2).

**TABLA 1.** Resistencia de *S. flexneri* y *S. sonnei* frente a los antimicrobianos estudiados

Antibiótico	<i>S. flexneri</i> (N= 25)		<i>S. sonnei</i> (N=6)	
	N	%	N	%
Ampicilina	20	80	2	33,3
Tetraciclina	16	64	0	0
Trimetoprima/ sulfametoxazol	15	60	4	66,6
Cloranfenicol	14	56	1	16,6
Ampicilina/ sulbactama	13	52	0	0
Gentamicina	2	8	0	0
Furazolidona	2	8	0	0
Fosfomicina	2	8	1	16,6
Ácido nalidíxico	1	4	0	0
Neomicina	1	4	0	0
Ciprofloxacina	0	0	0	0
Sulfisoxazol	0	0	0	0
Colistina	0	0	0	0
Cefotaxima	0	0	0	0

**TABLA 2.** Resistencia antimicrobiana en la totalidad de los aislamientos de *Salmonella* spp.

Antibióticos	<i>Salmonella</i> (N= 15)	
	N	%
Ampicilina	5	33,3
Tetraciclina	0	0
Trimetoprima/sulfametoxazol	0	0
Cloranfenicol	1	6,6
Ampicilina/sulbactama	3	19,8
Sulfisoxazol	0	0
Gentamicina	3	19,8
Furazolidona	5	33,3
Fosfomicina	0	0
Colistina	0	0
Ácido nalidíxico	1	6,6
Neomicina	1	6,6
Ciprofloxacina	0	0
Cefotaxima	2	13,2

## DISCUSIÓN

Los resultados del presente trabajo revelan una mayor frecuencia de *Shigella* y *Salmonella* como enteropatógenos causales de diarrea, lo que coincide con los estudios previos realizados en Cuba<sup>9,10</sup> y en otros países como Perú.<sup>3</sup> Sin embargo, en aquellos estudios en los cuales se pesquisó además la presencia de *Campylobacter*, esta fue la primera causa bacteriana de gastroenteritis,<sup>3</sup> o la segunda después de *Salmonella*<sup>11</sup> o de *Shigella*.<sup>12</sup>

Las especies más prevalentes encontradas dentro del género *Shigella* confirman resultados

previos que colocan en primer lugar a *S. flexneri*, como los realizados en Argentina,<sup>9,10</sup> Cuba,<sup>5</sup> Hong Kong,<sup>13</sup> Perú<sup>3</sup> y Tanzania;<sup>14</sup> no obstante ello, algunos autores han encontrado un predominio de *S. sonnei* en España,<sup>15</sup> Venezuela<sup>4</sup> y EE. UU.,<sup>11</sup> además de haber encontrado aislamientos de *S. boydii*<sup>4</sup> y *S. dysenteriae*;<sup>12</sup> estos hallazgos están indicando importantes variaciones regionales sobre la ocurrencia de las diferentes especies de *Shigella*.

El serotipo de *S. flexneri* más frecuente fue el 2, que coincide con los hallazgos regionales previos en la ciudad de Resistencia, Argentina.<sup>9</sup>

Dentro de los resultados merece destacarse la elevada resistencia de *S. flexneri* a algunos antibióticos como ampicilina principalmente, aunque en menor grado también a tetraciclina, trimetoprima/sulfametoxazol, cloranfenicol y ampicilina/sulbactama, lo cual limita su uso en el tratamiento médico.

Esta resistencia con tendencia ascendente se observó, sobre todo a partir de estos últimos años, según trabajos previos nacionales<sup>16</sup> y de otros países.<sup>6</sup> Suárez y otros en Córdoba, registraron que para *S. flexneri* la resistencia a la ampicilina aumentó en forma significativa (de 60 a 100 % entre 1990 y 1997) al igual que la resistencia al cloranfenicol (de 13 a 71 % en el mismo período)<sup>10</sup>. Según los mismos autores, para trimetoprima/sulfametoxazol el aumento no fue estadísticamente significativo, aunque en 1995 y 1996 se alcanzaron cifras de 96 y 91 %, respectivamente.

La mayor frecuencia de multiresistencia encontrada en aislamientos de *S. flexneri*, coincide con lo publicado en trabajos previos realizados en Cuba,<sup>5</sup> Brasil,<sup>17</sup> Egipto<sup>12</sup> y Perú.<sup>18</sup>

Los niveles de resistencia al ácido nalidíxico al igual que la ausencia de resistencia frente a ciprofloxacina, también son similares a los encontrados por otros autores.<sup>13,19,20</sup>

El fenotipo de resistencia combinada frente a ampicilina, cloranfenicol, tetraciclina y trimetoprima/sulfametoxazol fue también el que encontraron con mayor frecuencia *Navia* y otros en Tanzania.<sup>14</sup> Esa resistencia se vinculó con la presencia de plásmidos transferibles con pesos moleculares de 94,5 a 120 kb.

Los serotipos más frecuentes de *Salmonella* hallados en el presente trabajo coinciden con los

trabajos de Cevallos y otros en España<sup>19</sup> y con datos del CDC publicados en el anuario de *Salmonella* de 2003, donde 46 % de los aislamientos de *Salmonella* correspondieron a los serotipos *typhimurium*, *enteritidis* y *newport*,<sup>21</sup> aunque en otras publicaciones los serotipos más prevalentes fueron *enteritidis*, *infantis* y *agona*.<sup>4</sup>

A pesar del escaso número de aislamientos de *Salmonella*, se encontraron cepas multirresistentes de *S. newport* y *S. kottbus*. Estos hallazgos coinciden con los del CDC para quienes en 2002, *S. newport* ha emergido como el patógeno más multirresistente, porque 23 % de estos aislamientos fueron resistentes a 9 de 17 antibióticos ensayados, incluidas las cefalosporinas de espectro ampliado.<sup>21</sup> Cabe destacar que un informe de la Red de Monitoreo/Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos de la Organización Panamericana de la Salud da cuenta que durante 2004 no se hallaron aislamientos de *Salmonella* resistentes a cefalosporinas de tercera generación en la mayoría de los países latinoamericanos, con excepción de Argentina, Honduras, Nicaragua y Venezuela con cifras de 23, 20, 8 y 11 %, respectivamente.<sup>22</sup>

Del mencionado informe de la OPS también se desprende que la aparición de cepas de *Salmonella* resistentes al ácido nalidíxico es una constante en casi toda América, resultan más esporádicos los aislamientos resistentes a ciprofloxacina. Aunque en el presente trabajo no se detectó ningún aislamiento de *Salmonella* ni de *Shigella* resistente a ciprofloxacina, la aparición de cepas resistentes al ácido nalidíxico debe ser una señal de alerta, porque estudios realizados en *Salmonella* spp. han demostrado que la resistencia a este antibiótico estaría indicando una sensibilidad disminuida frente a las quinolonas fluoradas.<sup>23</sup>

Sobre la base de los resultados obtenidos se pudo determinar la mayor prevalencia de *Shigella* y dentro de este género, *S. flexneri*, en coincidencia con resultados publicados por otros autores.

El hecho de que *S. flexneri* haya presentado mayor resistencia antimicrobiana y mayor multirresistencia que *S. sonnei*, pone de manifiesto el grave problema de salud pública que suscita, porque se reducen las posibilidades terapéuticas en los grupos más vulnerables.

Como las especies de *Shigella* y su resistencia varían según la localización geográfica, cobran

gran importancia el control y seguimiento de los patrones de resistencia para la selección del tratamiento empírico adecuado.

El hallazgo de aislamientos productores de betalactamasas de espectro extendido o con sensibilidad reducida a las quinolonas fluoradas debe alertar acerca de la emergencia de este tipo de patógenos.

Como resultado de lo expuesto puede enfatizarse el hecho de que se deben poner en marcha actividades de vigilancia orientadas a detectar y controlar la aparición de nuevas cepas resistentes, a la vez que el estudio de la relación clonal entre los diferentes aislamientos mediante la aplicación de técnicas de tipificación epidemiológica puede ayudar a conocer con mayor precisión la distribución y evolución de las cepas resistentes circulantes en cada región.

#### Antimicrobial resistance of bacteria causing diarrhea in children from Corrientes, Argentina

##### SUMMARY

In Corrientes (Argentina), from January 2004 to April 2005, fecal samples from under 5 years-old children with acute diarrhea were collected; the stool samples were cultured onto selective media, and those colonies suspected to be *Salmonella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Shigella*, or *Escherichia coli* O157 were identified. The antimicrobial susceptibility was assessed by the disk diffusion method. Among 590 samples, the 7.7% were positive (*Salmonella* spp 32.6% and *Shigella* spp 67.4%). Of 31 *Shigella* isolates, 81% were *S. flexneri*, and 19% were *S. sonnei*. *S. flexneri* serotype 2 was the more frequent. *S. flexneri* strains showed higher multidrug resistance than *S. sonnei* strains. Among the *Salmonella enterica* serotypes, *S. typhimurium* and *S. newport* were the most frequent. Two isolates of *Salmonella* presented with multidrug resistance. This paper was a contribution to the knowledge of bacterial gastroenteritis etiology in our region and it called the attention to the emergence of multidrug-resistant enteropathogenic strains.

**Key words:** Diarrhea, enteropathogenic bacteria, antimicrobial resistance.

##### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Parashar UD, Bresee JS, Glass RI. The global burden of diarrhoeal disease in children. Bull WHO. 2003;81(4):236.
2. Sistema de Información Regional para la Vigilancia de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (SIRVETA). Brotes de ETA ocurridos, Argentina, 2000-2002. INPPAZ OPS/OMS. Último acceso 24/04/2004. Disponible en: [http://www.panalimentos.org/sirveta/e/graf\\_02.asp](http://www.panalimentos.org/sirveta/e/graf_02.asp)

3. Perales M, Camiña M, Quiñones C. Infección por *Campylobacter* y *Shigella* como causa de diarrea aguda acuosa en niños menores de dos años en el distrito de La Victoria, Lima-Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*. 2002;19(4):186-92.
4. Albarado L, Guzmán Y, Guzmán M, Betancourt J. *Salmonella* spp. y *Shigella* spp. asociados con síndrome diarreico agudo en niños menores de seis años de edad. *Kasmera*. 2005;33(2):132-41.
5. Ramírez M, Valdés N, Bravo L, Fernández A, Castañeda N. Perfil plasmídico y resistencia antimicrobiana en cepas de *Shigella* aisladas en Cuba. *Rev Cubana Med Trop*. 2004;56(3):178-85.
6. Yadón Z, Schmunis G. Sensibilidad de *Salmonella*, *Shigella* y *Vibrio cholerae* a los antimicrobianos en las Américas 1940-1997. En: Salvatierra González R, Benguini Y, editores. *Resistencia Antimicrobiana en las Américas: magnitud del problema y su contención*. Washington:Organización Panamericana de la Salud; 2000.
7. Bopp CA, Brenner FW, Fields PI, Wells JG, Strockbine NA. *Escherichia*, *Shigella* and *Salmonella*. En: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. Washington, DC:ASM Press; 2003.
8. NCCLS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Ninth Informational Supplement. Wayne, Pennsylvania: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2004.
9. Merino L, Hreñuk G, Ronconi M, Alonso M. Resistencia a antibióticos y epidemiología molecular de *Shigella* spp. en el Nordeste Argentino. *Rev Panam Salud Pública*. 2004;15(4):219-24.
10. Suárez ME, Carvajal L, Culasso C, Paredes M. Resistencia de *Shigella* spp. a los antimicrobianos Córdoba, Argentina, durante el período 1990-1997. *Rev Panam Salud Pública*. 2000;7(2):113-7.
11. Klein EJ, Boster DR, Stapp JR, Wells JG, Qin X. Diarrhea etiology in a Children's Hospital Emergency Department: a prospective cohort study. *Clin Infect Dis*. 2006;43(7):807-13.
12. El-Mohamandy H, Abdel-Messih IA, Youssef FG, Said M, Farag H. Enteric pathogens associated with diarrhea in children in Fayoum, Egypt. *Diag Microbiol Infect Dis*. 2006;56:1-5.
13. Chu Y, Houang E, Lyon D, Ling J, Ng T, Cheng A. Antimicrobial resistance in *Shigella flexneri* and *Shigella sonnei* in Hong Kong, 1986-1995. *Antimicrob Agents Chemother*. 1998;42(2):440-3.
14. Navia M, Capitano L, Ruiz J, Vargas M, Urassa H. Typing and characterization of mechanisms of resistance of *Shigella* spp. isolated from feces of children under 5 years of age from Ifakara, Tanzania. *J Clin Microbiol*. 1999;37(10):3113-7.
15. Castillo F, Carranza E, Clavel A, Rubio M, Gómez L. Epidemiología de la shigelosis y colicintopía de *Shigella sonnei*. Un estudio de 14 años. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 1991;9(9):530-6.
16. Rossi A, Tokumoto M, Galas M, Soloaga R, Corso A, Red Nacional de Laboratorios que participan en el Programa WHONET. Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos en Argentina. Programa WHONET, 1995-1996. *Rev Panam Salud Pública*. 1999;6(4):234-41.
17. Lima AA, Lima N, Pinho M, Barros E, Texeira M. High frequency of strains multiply resistant to ampicillin, trimethoprim/sulfanethoxazole, streptomycin, chloramphenicol, and tetracycline isolates from patients with shigellosis in Northeastern Brazil during the period 1988-1993. *Antimicrob Agents Chemother*. 1995;39(1):257-9.
18. Arias I, Meza A. Resistencia antimicrobiana de *Salmonella*, *Shigella* y *Vibrio cholerae*, Perú 1997-2002. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*. 2004;21(4):273-5.
19. Cevallos C, Hernández Pezzi G, Torres A, Ordóñez P, Villanubia S, Bleda M. Brotes de Enfermedades Transmitidas por Alimentos. España 2003. Centro Nacional de Epidemiología. *Bol Epidemiol Semanal España*. 2005;13(3):25-36.
20. Casellas JM, Casellas JM, Tome G, Pagniez G, Ivanovic S, Espínola C, et al. Actividad in vitro de la Azitromicina frente a 100 cepas de *Shigella* spp. aisladas de niños con diarrea aguda en Argentina y Paraguay, en comparación con otros agentes antimicrobianos. *Rev Panam Infect* 2000. Acceso el 9 de marzo de 2004. Disponible en: <http://www.encolombia.com/medicina/infectologia/infectologia4100sup-actividad.htm>
21. Center for Disease Control and Prevention. *Salmonella* Annual Summary 2003. Atlanta. CDC. Acceso el 15 de abril de 2004. Disponible en: <http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/of.ces.htm>
22. Organización Panamericana de la Salud. Informe Anual de la Red de Monitoreo/Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos-2004-Brasil. Washington:OPS/OMS; 2005.
23. Hakanen A, Kotilainen P, Jalava J, Siitonen A, Huovinen P. Detection of decreased fluoroquinolone susceptibility in *Salmonellas* and validation of nalidixic acid screening test. *J Clin Microbiol*. 1999;37(11):3572-7.

Recibido: 16 de noviembre de 2006. Aprobado: 21 de mayo de 2007.

Dra. *Silvia Balbachán*. Instituto de Medicina Regional. Universidad Nacional del Nordeste (UNNE). Av. Las Heras 727 – Resistencia, Chaco (Argentina). Correo electrónico: [silviabalbachan@yahoo.com.ar](mailto:silviabalbachan@yahoo.com.ar)