

AISLAMIENTO DE *S. typhi* RESISTENTE A ALTAS CONCENTRACIONES DE CLORANFENICOL

David Bessudo M.¹, Jorge Olarte², P. Mendoza-Hernández³, E. Galindo², J. Carrillo², G. Gutiérrez-Trujillo⁴, y J. Kumate²

A principios de 1972 se inició en México una epidemia de fiebre tifoidea, durante la cual ha predominado una cepa de Salmonella typhi (92% de los casos con bacteriología positiva) del mismo fagotipo, la que presenta resistencia múltiple (R) a cloranfenicol, tetraciclinas y estreptomycinina.

El cloranfenicol se ha considerado hasta la fecha como el medicamento de elección para tratar la fiebre tifoidea. Sin embargo, diversas publicaciones han informado acerca del hallazgo de cepas de *Salmonella typhi* resistentes a altas concentraciones de cloranfenicol en diversos países de Asia y Africa, en proporciones a veces tan elevadas como el 20% en la India y el 25% en Nigeria (1-5). En México, hasta donde se sabe, todos los cultivos de *S. typhi* aislados se habían mostrado invariablemente sensibles a este antibiótico (6-8).

En febrero de 1972 se inició en las ciudades de México, D.F., y Pachuca, estado de Hidalgo, una epidemia de fiebre tifoidea, de amplias proporciones, la que posteriormente se ha venido propagando a otras entidades. Informes todavía incompletos indican que sólo en el Distrito Federal y en el estado de Hidalgo, se presentaron más de 2,000 casos de la enfermedad, entre febrero y mayo de 1972 (9).

A partir de la epidemia llamó poderosamente la atención el hallazgo de cepas de *S. typhi* resistentes al cloranfenicol, observación realizada simultáneamente en diferentes hospitales de la ciudad de México,

llegándose a concluir que la epidemia era causada principalmente por una cepa resistente a dicho antibiótico. Esta observación fue confirmada por cuanto que la gran mayoría de los cultivos de *S. typhi* aislados, además de mostrar resistencia al cloranfenicol, pertenecían a un fagotipo peculiar identificado como "Vi degradado cercano al fagotipo A", agregándose el fracaso aparente del tratamiento con cloranfenicol observado por los clínicos en una proporción importante de los enfermos, lo que será motivo de otro estudio.

Material y métodos

Se reunió un total de 486 cultivos de *S. typhi* aislados en los laboratorios del Hospital de Infectología del Centro Médico La Raza (IMSS), Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales, Hospital Infantil de México y Hospital de Pediatría del IMSS. De este total se seleccionó un grupo de 327 cepas, procedentes de diferentes localidades (cuadro 1), el cual se sometió a la prueba de susceptibilidad por el método de dilución en placa de Jackson y Finland (10). Se utilizaron concentraciones de 0.6, 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 300, 400 y 500 µg/ml de cloranfenicol.

Un grupo de 100 cepas de *S. typhi* se probó con cloranfenicol, además con tetraciclina, estreptomycinina, ampicilina, cefalo-

¹ Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales, México, D.F.

² Hospital Infantil de México, México, D.F.

³ Hospital de Infectología del Centro Médico La Raza del IMSS, México, D.F.

⁴ Hospital de Pediatría del IMSS, México, D.F.

CUADRO 1—Resistencia a más de 50 $\mu\text{g/ml}$ de cloranfenicol encontrada en 327 cepas de *S. typhi* aisladas en diferentes localidades de la República Mexicana entre marzo y julio de 1972.

Localidad	No. de cepas		Porcentaje
	Estudiadas	Resistentes	
Ciudad de México y zonas aledañas del Estado de México	226	214	94.7
Pachuca, Hgo.	28	26	92.9
Tlaxcala, Tlax.	11	10	90.9
Puebla, Pue.	28	22	78.6
Zacatecas, Zac.	12	10	85.0
San Luis Potosí, S.L.P.	18	18	100.0
Poza Rica, Ver.	4	3	75.0
Total	327	303	92.7

tina, colistín, gentamicina, kanamicina, ácido nalidíxico y nitrofurantoína (cuadro 2).

A 49 cultivos de *S. typhi* se les determinó el fagotipo en el CDC de Atlanta, Georgia, por cortesía del Dr. George J. Hermann (cuadro 3).

CUADRO 2—Susceptibilidad de 100 cepas de *S. typhi* a 10 agentes antimicrobianos. Método de dilución en placa.

Agente antimicrobiano	Porcentaje de cepas	
	Sensibles a 0.6 a 5 $\mu\text{g/ml}$	Resistentes a 200 $\mu\text{g/ml}$ o más
Cloranfenicol	12	88
Tetraciclina	12	88
Estreptomina	12	88
Ampicilina	100	0
Cefalotina	100	0
Colistín	100	0
Gentamicina	100	0
Kanamicina	100	0
Nitrofurantoína	100	0
Acido nalidíxico	100	0

CUADRO 3—Fagotipo de 49 cepas de *S. typhi*; 11 sensibles al cloranfenicol y 38 resistentes, aisladas en diferentes localidades de la República Mexicana.

Localidad	No. de cepas estudiadas	Fagotipo y número de cepas					
		E-1		26		Vi degradado cercano al A	
		S ^a	R ^b	S ^a	R ^b	S ^a	R ^b
Ciudad de México y zonas aledañas al Estado de México	20	6	—	1	—	1	12
Tlaxcala, Tlax.	12	—	—	—	—	—	12
Estado de Hidalgo	9	—	—	—	—	—	9
Puebla, Pue.	8	3	—	—	—	—	5

^a = sensible, ^b = resistente.

Resultados

De 486 cultivos de *S. typhi* estudiados, 445 (92%) se mostraron resistentes a más de 50 $\mu\text{g/ml}$ de cloranfenicol. Como se observa en el cuadro 1, en 327 de estos cultivos, procedentes de diversas localidades, la proporción de cepas resistentes varió del 75 al 100%, dando un promedio de 92.7%.

De las 100 cepas de *S. typhi* en que se investigó la susceptibilidad para otros agentes antimicrobianos, además del cloranfenicol, todas se mostraron sensibles a ampicilina, cefalotina, colistín, gentamicina, kanamicina, nitrofurantoína y ácido nalidíxico. Por el contrario, el 88% de estos cultivos presentó resistencia a más de 200 $\mu\text{g/ml}$ de cloranfenicol, tetraciclina y estreptomina.

En el cuadro 3 se señala la distribución de los fagotipos de 49 cultivos de *S. typhi*, de acuerdo con la procedencia así como de su sensibilidad o resistencia al cloranfenicol, encontrándose que las 38 cepas resistentes al cloranfenicol pertenecían al mismo grupo designado "Vi degradado cercano al A", en tanto que de las 11 cepas sensibles, 9 eran del fagotipo E-1, 1 del fagotipo 26 y sólo 1 del grupo "Vi degradado cercano al A".

Discusión

Una gran proporción (92%) de los cultivos de *S. typhi* aislados durante la epidemia de fiebre tifoidea observada en México desde principios de 1972, principalmente en el estado de Hidalgo y en el Distrito Federal,

presenta resistencia elevada al cloranfenicol. Todas las cepas resistentes al cloranfenicol se mostraron igualmente resistentes a la tetraciclina y a la estreptomina, pero sensibles a otros siete agentes antimicrobianos probados, incluyendo la ampicilina. Por otro lado, los cultivos resistentes a los que se determinó el fagotipo pertenecen todos al mismo grupo designado como "Vi degradado cercano al fagotipo A". Estos hallazgos confirman la sospecha de que la epidemia ha sido originada por una cepa única con resistencia múltiple, desde luego entremezclándose con casos endémicos de fiebre tifoidea, como lo indica el hecho que el 8% de los cultivos de *S. typhi* encontrados son sensibles al cloranfenicol, y además, con una sola excepción, pertenecen a otros fagotipos (E-1 y 26). En cuanto al fagotipo de la cepa epidémica es interesante recordar que ya se había encontrado en México desde hace más de quince años, al igual que los otros dos considerados en este trabajo como correspondientes a cepas endémicas (11).

En estudios no publicados, realizados por dos de los autores (Olarde, J. y Galindo, E.), así como en el CDC de Atlanta, se ha demostrado que la resistencia al cloranfenicol, tetraciclina y estreptomina, de los cultivos de *S. typhi* procedentes de la epidemia, depende de episomas o factores de resistencia (R) aparentemente idénticos a los episomas encontrados en las cepas de *Shigella dysenteriae* 1 responsables de la epidemia de disentería que ha tenido lugar recientemente en Centroamérica y parte de México, incluyendo el estado de Hidalgo y el Distrito Federal (12, 13). Episomas semejantes han sido encontrados previamente en México en *Shigella flexneri* y otras bacterias enteropatógenas (14). La posibilidad de un origen común del episoma de las cepas epidémicas de *Sh. dysenteriae* 1 y *S. typhi*, tiene implicaciones de gran trascendencia, ya que además de la resistencia a los antibióticos este episoma pudiera conferir a la bacteria características de virulencia que

expliquen su enorme transmisibilidad, aunada a la capacidad aparente de originar cuadros clínicos particularmente severos (15).

Por último, aunque este punto sea motivo de una comunicación posterior, es importante hacer hincapié en la repercusión que este fenómeno de resistencia al cloranfenicol de *S. typhi* ha tenido en el tratamiento de la enfermedad, lo que ha obligado a los clínicos a recurrir a otros medicamentos aparentemente menos efectivos.

Resumen y conclusiones

Se determinó la sensibilidad de 486 cultivos de *S. typhi* aislados durante la epidemia de fiebre tifoidea observada en México desde principios de 1972, habiéndose encontrado 445 cepas resistentes a más de 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de cloranfenicol, o sea el 92% del total de cultivos estudiados.

Se seleccionó un grupo de 327 cepas, de acuerdo con su procedencia, 226 pertenecientes a la Ciudad de México y zonas aledañas del estado de México, 28 a Pachuca, Hgo., 11 a Tlaxcala, Tlax., 28 a Puebla, Pue., 12 a Zacatecas, Zac., 18 a San Luis Potosí, S.L.P., y 4 a Poza Rica, Ver. En este grupo de 327 cultivos la proporción de la resistencia varió, en las diversas localidades, del 75 al 100%, dando un promedio de 92.7% de cepas resistentes al cloranfenicol.

Siguiendo el método de dilución en placa, se estudió la sensibilidad de 100 cepas de *S. typhi* para 10 agentes antimicrobianos distintos, habiéndose encontrado que el 88% fue uniformemente resistente a más de 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de cloranfenicol, tetraciclina y estreptomina; los 12 cultivos sensibles fueron inhibidos por estos tres antibióticos, a concentraciones inferiores a 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Las 100 cepas se mostraron uniformemente susceptibles a ampicilina, cefalotina, colistín, gentamicina, kanamicina, nitrofurantoína y ácido nalidíxico, a concentraciones que variaron entre 0.6 y 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

A 49 cultivos de *S. typhi*, 11 sensibles y 38 resistentes al cloranfenicol, se determinó el fagotipo, encontrándose que todas las cepas resistentes pertenecían al mismo grupo designado "Vi degradado cercano al fagotipo A". De las 11 cepas sensibles, 9 eran del fagotipo E-1, 1 del fagotipo 26 y sólo 1 del grupo "Vi degradado cercano al fagotipo A".

La proporción tan elevada de cepas resistentes al cloranfenicol, así como la uniformidad del grado de resistencia y el fagotipo, permiten concluir que la epidemia de fiebre tifoidea ha sido causada por una cepa única, con las características que se

señalan, entremezclándose con casos endémicos.

Se menciona la similitud entre la resistencia múltiple que presenta esta cepa epidémica de *S. typhi*, con la resistencia que posee la cepa de *Shigella dysenteriae* 1 responsable de la epidemia de disentería estudiada recientemente en Centroamérica y México, pudiendo tener los dos episomas el mismo origen.

Se hace hincapié en la repercusión adversa que este fenómeno de resistencia de *S. typhi* al cloranfenicol ha tenido en el tratamiento de la enfermedad. □

REFERENCIAS

- (1) Murti, B. R. "Resistance of *Salmonella typhi* to chloramphenicol". *J Clin Path* 15:544-554, 1962.
- (2) Njoku-Obi, A. N. y Njoku-Obi, J. C. "Resistance of *Salmonella typhosa* to chloramphenicol". *J Bact* 90:552-553, 1965.
- (3) Chandra, R. K. et al. "Chloramphenicol resistant enteric fever with hematological complications in a child". *Indian J Pediat* 32:313-315, 1965.
- (4) Nare, I. J. "Drug resistance in *Salmonella typhosa*". *South Afr Med J* 41:703-704, 1967.
- (5) Anderson, E. S. "Drug resistance in *Salmonella typhimurium* and its implications". *Brit Med J* 3:333-339, 1968.
- (6) Olarte, J. y Figueredo, G. "The sensitivity of *Salmonella typhi* to synnematin B and other antibiotics. A study of forty freshly isolated strains". *Antibiot Chemother* 5:162-165, 1955.
- (7) Olarte, J.; Galindo, E., y Joaquín, A. "Sensitivity of *Salmonella*, *Shigella*, and enteropathogenic *Escherichia coli* species to cephalothin, ampicillin, chloramphenicol, and tetracycline". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, págs. 787-793, 1962.
- (8) Olarte, J. "Quimioterapia de las salmonelosis". *Gaceta Med Méx* 99:642-648, 1969.
- (9) "Boletín Informativo". Dirección General de Investigación en Salud Pública, S.S.A., México, D.F., agosto 15 de 1972.
- (10) Jackson, G. G. y Finland, M. "Comparison of methods for determining sensitivity of bacteria to antibiotics *in vitro*". *A.M.A. Arch Int Med* 88:446-460, 1951.
- (11) Olarte, J. y Varela, G. "Epidemiología de la salmonelosis en México". En *The World Problem of Salmonellosis*, Ed. por E. van Oye, La Haya, Holanda, 1964.
- (12) Olarte, J.; Varela, G., y Galindo, E. "Infección por *Shigella dysenteriae* 1 (Bacilo de Shiga) en México". *Bol Med Hosp Infant (Méx)*. 28:605-612, 1971.
- (13) Mata, L. J. et al. "Avances sobre el conocimiento de la disentería en Guatemala". *Rev Latamer Microbiol* 14:1-10, 1972.
- (14) Olarte, J. y Galindo, E. "Factores de resistencia a los antibióticos encontrados en bacterias enteropatógenas aisladas en la Ciudad de México". *Rev Latamer Microbiol* 12:173-179, 1970.
- (15) Gangarosa, E. J. et al. "An epidemic associated episome". *J Infect Dis* 126:215-218, 1972.

Isolation of *S. typhi* resistant to high concentrations of chloramphenicol. Typhoid fever epidemic, Mexico, 1972 (Summary)

The determination of the antibiotic sensitivity of 486 cultures of *S. typhi*, all isolated during the epidemic of typhoid fever observed in

Mexico since early 1972, revealed 445 strains, or 92% of the total studied, resistant to more than 50 µg/ml of chloramphenicol.

A group of 327 strains was selected according to source, with 226 from Mexico City and surrounding areas of the State of Mexico, 28 from Pachuca, Hidalgo; 11 from Tlaxcala, Tlaxcala; 28 from Puebla, Puebla; 12 from Zacatecas, Zacatecas; 18 from San Luis Potosí, S.L.P., and 4 from Poza Rica, Veracruz. In this group of cultures, the proportion of resistance in the various localities ranged from 75 to 100%, with an average of 92.7% of the strains resistant to chloramphenicol.

Using the plate dilution method, the sensitivity of 100 strains of *S. typhi* to ten different antimicrobials was studied, revealing that 88% were uniformly resistant to more than 200 µg/ml of chloramphenicol, tetracycline, and streptomycin; the 12 sensitive cultures were inhibited by these three antibiotics at concentrations of less than 5 µg/ml. The 100 strains were uniformly susceptible to ampicillin, cephalothin, colistin, gentamicin, kanamycin, nitrofurantoin and nalidixic acid at concentrations varying from 0.6 to 5 µg/ml.

The phage type of 49 cultures of *S. typhi*, 11 sensitive to chloramphenicol and 38 resistant,

was determined, demonstrating that all of the resistant strains belonged to the same group, designated "Vi degraded approaching A". Of the 11 sensitive strains, nine were phage type E-1, one phage type 26, and one phage type "Vi degraded approaching A".

The elevated proportion of chloramphenicol resistant strains as well as the uniformity of the degree of resistance and of phage type, suggest that the epidemic of typhoid fever as being caused by a single strain with the previously mentioned characteristics, intermixed with endemic cases.

Mention is made of the similarity between the multiple-drug resistance which this epidemic strain of *S. typhi* presents and that which is possessed by the strain of *Shigella dysenteriae* 1 responsible for the large epidemic of dysentery recently studied in Central America and Mexico. It is possible that the two episomes have a common origin.

The adverse effect which this phenomenon of multiple-drug resistance of *S. typhi* has had in the treatment of the illness with chloramphenicol is emphasized.

Isolamento de *S. typhi* resistente a altas concentrações de cloranfenicol. Epidemia de febre tifóide, México, 1972 (Resumo)

Determinou-se a sensibilidade de 486 culturas de *Salmonella typhi* isolados no decorrer da epidemia de febre tifóide observada no México desde princípios de 1972. Comprovou-se que 445 dessas culturas eram resistentes a mais de 50 µg/ml de cloranfenicol, ou seja, 92% do total de culturas estudadas.

Selecionou-se um grupo de 327 culturas, de acordo com sua procedência—226 procedentes da cidade do México e zonas vizinhas ao Estado do México, 28 de Pachuca, Hgo., 11 de Tlaxcala, Tlax., 28 de Puebla, Pue., 12 de Zacatecas, Zac., 18 de San Luis, Potosí, S.L.P. e 4 de Poza Rica, Ver. Nessas 327 culturas a proporção de resistência, nas diversas localidades, variou de 75% a 100%, ou seja, em média 92,7% das culturas eram resistentes ao cloranfenicol.

Utilizando-se o método de diluição na placa, estudou-se a sensibilidade de 100 culturas de *Salmonella typhi* para 10 agentes antimicrobianos distintos, havendo-se comprovado que 88% das mesmas eram uniformemente resistentes a mais de 200 µg/ml de cloranfenicol, tetraciclina e estreptomicina; as 12 culturas sensíveis foram inibidas por esses três antibióticos em concentrações inferiores a 5 µg/ml.

As 100 culturas revelaram-se uniformemente suscetíveis à ampicilina, à cefalotina, à colistina, à gentamicina, à canamicina, à nitrofurantoína e ao ácido nalidixico, em concentrações que variavam de 0,6 a 5 µg/ml.

De 49 culturas de *Salmonella typhi*—11 sensíveis e 38 resistentes ao cloranfenicol—determinou-se o fagótipo, havendo-se comprovado que todas as culturas resistentes pertenciam ao grupo "Vi degradado próximo ao fagótipo A". Das 11 culturas sensíveis, 9 pertenciam ao fagótipo E-1, 1 ao fagótipo 26 e apenas 1 ao grupo "Vi degradado próximo ao fagótipo A".

Considerando-se a proporção tão elevada de culturas resistentes ao cloranfenicol, a uniformidade do grau de resistência e o fagótipo, pode-se concluir que a epidemia de febre tifóide foi provocada por um só tipo de bacilo, com as características assinaladas, e que se apresentaram também casos endêmicos.

Menciona-se a semelhança entre a resistência múltipla que apresenta esse tipo epidêmico de *Salmonella typhi* com a resistência que possui o *Shigella dysenteriae* 1 responsável pela epidemia de disenteria recentemente estudada na

América Central e no México, podendo ter os dois epissomas a mesma origem.

Insiste-se na repercussão desfavorável que

esse fenômeno de resistência do *Salmonella typhi* ao cloranfenicol teve no tratamento da doença.

**Isolement de *S. typhi* résistant à de fortes concentrations de chloramphénicol.
Epidémie de fièvre typhoïde au Mexique en 1972 (Résumé)**

La détermination de la sensibilité antibiotique de 486 cultures de *S. typhi*, qui ont été toutes isolées pendant l'épidémie de fièvre typhoïde enregistrée au Mexique depuis le début de 1972, a révélé que 445 souches, ou 92% du nombre total étudié, ont été résistantes à plus de 50 µg/ml de chloramphénicol.

Un groupe de 327 souches a été choisi, selon la source, dont 226 provenaient du Mexique et des zones avoisinantes de l'Etat du Mexique; 28 de Pachuca (Hidalgo); 11 de Tlaxcala (Tlaxcala); 12 de Zacatecas (Zacatecas); 18 de San Luis Potosi (S.L.P.), et 4 de Poza Rica (Veracruz). Dans ce groupe de cultures, la proportion de résistance dans les différentes localités a varié de 75 à 100%, avec une moyenne de 92,7% des souches présentant une résistance au chloramphénicol.

En employant la méthode de dilution sur plaque, on a étudié la sensibilité de 100 souches de *S. typhi* à dix différents microbicides, et on a constaté que 88% ont été uniformément résistants à plus de 200 µg/ml de chloramphénicol, de tétracycline et de streptomycine; les 12 cultures sensibles étaient inhibées par ces trois antibiotiques à des concentrations de moins de 5 µg/ml. Les 100 souches ont été uniformément susceptibles aux substances suivantes: ampicilline, céphalotine, colistine, gentamicine, kanamycine, nitrofurantoïne et acide

nalidixique à des concentrations variant de 0,6 à 5 µg/ml.

Le type bactériophage de 49 cultures de *S. typhi*, dont 11 sensibles au chloramphénicol et 38 résistants, a été vérifié, établissant que l'ensemble des souches résistantes appartenait au même groupe désigné comme "Vi dégradé approchant A". Sur les 11 souches sensibles, neuf étaient du type bactériophage "Vi dégradé approchant A".

La proportion élevée de souches résistant au chloramphénicol, ainsi l'uniformité du degré de résistance et du type bactériophage, donnent à penser que l'épidémie de fièvre typhoïde a été causée par une seule souche ayant les caractéristiques déjà mentionnées, mêlées avec des cas endémiques.

Mention est faite de la similitude entre la résistance contre la multiplicité de substances que présente cette souche épidémique de *S. typhi* et celle que possède la souche la *Shigella dysenteriae* qui est la cause de la grande épidémie de dysenterie étudiée dernièrement en Amérique centrale et au Mexique. Il est possible que les deux épisodes ont une origine commune.

L'étude souligne l'effet défavorable que ce phénomène de résistance à de multiples substances de *S. typhi* a eu dans le traitement de la maladie avec le chloramphénicol.

* * *

"La salud empieza en el hogar"

7 de abril de 1973

DIA MUNDIAL DE LA SALUD

25º Aniversario

de la

ORGANIZACION MUNDIAL

DE LA SALUD

1948-1973

* * *