

RESISTENCIA DE SHIGELLA FLEXNERI A LAS TETRACICLINAS, AL CLORANFENICOL Y A LA ESTREPTOMICINA*

ESTUDIO DE 131 CEPAS RECIENTEMENTE AISLADAS

JORGE OLARTE, QBP. Y JOAQUIN A. DE LA TORRE, M.D.

Laboratorio de Bacteriología Intestinal, Hospital Infantil, México, D. F.

De las bacterias enteropatógenas que se encuentran en niños con diarrea en la Ciudad de México, a partir de los seis meses de edad, los microorganismos del grupo *Shigella* son los más frecuentes. En tres investigaciones llevadas a cabo durante los últimos 15 años en esta Ciudad, se encontró que el 91 % (1), el 79 % (2) y el 76 % (3), respectivamente, del total de cepas de *Shigella* aisladas de enfermos con diarrea, pertenecían al subgrupo B (*Sh. flexneri*).

En el curso del tratamiento de casos de shigelosis en el Hospital Infantil de México, se han observado algunos problemas al parecer relacionados con la aparición de cepas resistentes a los antibióticos de uso común. Se ha sugerido que esta aparición de cepas resistentes se debe en cierta forma al amplio uso de los antibióticos (4).

La presente comunicación tiene por objeto dar a conocer la susceptibilidad de 131 cepas de *Sh. flexneri*, aisladas en México en los últimos cinco años, de las heces fecales de niños con diarrea, a cinco antibióticos distintos empleados durante el mismo período en el Hospital Infantil de México.

MATERIAL Y METODOS

Cepas estudiadas.—Se estudiaron dos series de cultivos de *Shigella flexneri*. La primera serie comprendió 31 cepas aisladas en el año de 1953, y la segunda, 100 cepas aisladas durante los años 1955, 1956 y 1957. La segunda serie estuvo formada por los siguientes serotipos: *Sh. flexneri* 2a (54 cepas), *Sh. flexneri* 4 (13 cepas), *Sh. flexneri* 6

(12 cepas), *Sh. flexneri* 1b (8 cepas), *Sh. flexneri* 3 (7 cepas) y *Sh. flexneri* 1a (6 cepas).

Antibióticos probados.—Se usaron soluciones, recientemente preparadas, de los siguientes antibióticos: tetraciclina, clorotetraciclina, oxitetraciclina, cloranfenicol y estreptomycinina.

Prueba de sensibilidad.—Cada cepa de *Shigella flexneri* fue estudiada por el método de dilución en placa, descrito por Jackson y Finland (5). Se utilizó el medio de cultivo "infusión de cerebro y corazón", con agar al 1,5 % (Difco). Se probaron las concentraciones finales de antibióticos siguientes: 50, 10, 5, 2,5, 1,25, y 0,6 µg./ml.

Cada placa fue inoculada con un cultivo en caldo de tres horas, y las estrías se practicaron con un hisopo estéril. A su vez, este cultivo utilizado como inóculo se preparó mediante la siembra de 0,1 ml. de un cultivo de 20 horas en 10 ml. de caldo.

Se tomó como lectura final de sensibilidad la concentración mínima del antibiótico que produjo inhibición a las 20 horas de incubación a 37°C.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los tres antibióticos, tetraciclina, oxitetraciclina y clorotetraciclina, mostraron una actividad semejante sobre las cepas de *Shigella* estudiadas, por lo que sólo se indican los resultados obtenidos con la tetraciclina.

En el cuadro No. 1 se puede ver que ninguna de las 31 cepas de *Shigella* probadas en 1953 fue resistente a la tetraciclina. Es interesante señalar que durante el mismo año esta sustancia se usó en forma limitada en el Hospital Infantil de México. En el curso de los años siguientes (1955-1957), el uso de este antibiótico fue extenso y resaltó el

* Este trabajo se publica simultáneamente en inglés en *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*.

hecho de que, simultáneamente con el empleo en mayor escala de la sustancia, apareció cierto número de cepas resistentes a la tetraciclina, cuya frecuencia fue en aumento. La aparición de cepas resistentes a la acción de la tetraciclina, ha sido descrita en otros grupos de bacterias enteropatógenas. Huey y Edwards (4) encontraron que de 100 cepas de *Salmonella typhimurium*, aisladas de aves, y otras 100 cepas del mismo germen, aisladas del hombre, antes de 1948, ninguna fue resistente a la tetraciclina; en cambio, de 100 cepas aisladas de aves y 100 del hombre, después de enero de 1956, el 9% de las primeras y el 5% de las últimas fue resistente a este antibiótico. Buttiaux *et al* (6), al estudiar la susceptibilidad a la tetraciclina de cepas de *Escherichia coli* 0111:B4, aisladas de niños hospitalizados, encontraron que ninguna de las cepas fue resistente en 1953, en tanto que el 92,5% de las cepas aisladas en 1955, resultaron resistentes a este antibiótico.

CUADRO No. 1.—Comparación de la resistencia a varios antibióticos de cepas de *Shigella flexneri* aisladas en diferentes años.

Antibiótico	Año	Uso general del antibiótico en el Hospital	No. de cepas probadas	Por ciento de cepas resistentes a 10 µg./ml. o más
Tetraciclina	1953	limitado	31	0
	1955	extenso	26	19
	1956	extenso	41	34
	1957	extenso	33	39
Cloranfenicol	1953	limitado	31	0
	1955	extenso	26	8
	1956	extenso	41	7
	1957	extenso	33	3
Estreptomina	1953	extenso	31	74
	1955	limitado	22	50
	1956	limitado	18	39
	1957	limitado	33	39

El significado de los resultados de las pruebas de sensibilidad *in vitro* que nosotros obtuvimos puede ser reforzado por las siguientes observaciones de orden clínico. De la Torre, Olarte y Joaquín (7), trataron con tetraci-

clina a 14 niños con diarrea, todos ellos infectados con gérmenes del grupo *Shigella*, 10 de los cuales fueron susceptibles *in vitro* al antibiótico y 4 resistentes a más de 50 µg./ml. En el primer grupo, 9 niños curaron y en un caso el antibiótico no mostró ningún beneficio aparente. En el grupo de niños con microorganismos resistentes a la tetraciclina, sólo uno curó, y el antibiótico no mostró ningún beneficio en los otros 3 casos. Marberg, Altmann y Eshkol-Bruck (8), también fracasaron en el tratamiento con tetraciclina de 7 casos de shigelosis originados por cepas resistentes *in vitro* a esta sustancia.

Se observó, igualmente, la aparición de cepas resistentes al cloranfenicol, aunque el fenómeno no fue tan notable como en el caso de la tetraciclina.

Por lo que se refiere a la estreptomina, se presentó la situación opuesta. Durante el año de 1953, en el cual la sustancia tuvo amplio uso, se encontró un alto porcentaje (74%) de cepas resistentes; esta proporción decreció considerablemente en los años siguientes (39% en 1957), durante los cuales el empleo de este antibiótico fue más limitado.

Los datos que se consignan en el cuadro No. 2, indican que las concentraciones de tetraciclina y cloranfenicol necesarias para inhibir el desarrollo de la mayoría de las cepas de *Shigella* estudiadas, fueron inferiores a las concentraciones de estreptomina necesarias para lograr el mismo efecto. En el caso de la tetraciclina, concentraciones de 2,5 µg./ml., o menores, fueron suficientes para inhibir 64 de las 68 cepas susceptibles. En el del cloranfenicol, 91 de las 94 cepas

CUADRO No. 2.—Susceptibilidad de cepas de *Shigella flexneri* aisladas durante los años 1955-1957, a varias concentraciones de tres antibióticos distintos.

Antibiótico	No de cepas probadas	Por ciento de inhibición a la concentración indicada del antibiótico (µg./ml.)						
		0,6	1,25	2,5	5	10	50	>50
Tetraciclina	100	61	2	1	3	1	2	30
Cloranfenicol	100	75	12	4	2	1	0	6
Estreptomina	73	0	0	3	42	12	1	41

susceptibles fueron igualmente inhibidas con concentraciones similares. En cambio, sólo 3 de los 32 cultivos susceptibles a la estreptomieina fueron inhibidos por esta cantidad del antibiótico; la mayoría de las cepas consideradas susceptibles a esta substancia necesitaron concentraciones de 5 a 10 µg./ml. para ser inhibidas.

Los datos del cuadro No. 3 indican que no hubo ninguna diferencia significativa en cuanto a la susceptibilidad a la tetraciclina entre los diferentes serotipos de *Sh. flexneri* que se probaron; en cambio, en el caso del cloranfenicol y de la estreptomieina, hubo ciertos serotipos más susceptibles que otros. Con el cloranfenicol, los serotipos 1b y 4 se mostraron más resistentes que los otros, en tanto que con la estreptomieina, los cultivos pertenecientes a los serotipos 6 y 1b dieron el mayor número de cepas resistentes.

CUADRO No. 3.—Comparación de la resistencia a varios antibióticos de 100 cepas de diferentes serotipos de *Shigella flexneri* aisladas durante los años de 1955 a 1957.

Serotipo	No. de cepas probadas	Por ciento de cepas resistentes a 10 µg./ml. o más del antibiótico indicado			
		Tetraciclina	Cloranfenicol	Estreptomieina	
				No. de cepas probadas	Por ciento de resistencia
<i>Sh. flexneri</i> 2a . . .	54	34	2	37	41
<i>Sh. flexneri</i> 4 . . .	13	38	15	13	38
<i>Sh. flexneri</i> 6 . . .	12	42	0	10	60
<i>Sh. flexneri</i> 1b . . .	8	28	28	7	57
<i>Sh. flexneri</i> 3 . . .	7	14	0	4	25
<i>Sh. flexneri</i> 1a . . .	6	14	0	2	0
Todos los tipos . . .	100	32	6	73	42

REFERENCIAS

(1) Zozaya, J., y Villanueva, E.: Clasificación serológica, según los tipos de Andrewes e Inman de *Shigella Paradyserteriae* aisladas en la Ciudad de México, *Rev. Inst. Salub. y Enf. Trop.*, 4:127-137, 1943.
 (2) Olarte, J., y Varela, G.: Clasificación de 626 cultivos de *Shigella* aislados de niños con

RESUMEN

Se estudió la acción de la tetraciclina, oxitetraciclina, clorotetraciclina, cloranfenicol y estreptomieina, sobre 131 cepas de *Shigella flexneri* aisladas durante los años de 1953, 1955, 1956 y 1957.

Ninguna de las 31 cepas de *Sh. flexneri* probadas en 1953 fue resistente a las tetraciclinas. Entre las cepas aisladas durante los años de 1955, 1956 y 1957, el 19%, 34% y 39%, respectivamente, se mostraron resistentes a estos antibióticos. Se discute la posible relación entre la aparición de las cepas resistentes y el uso extenso de las tetraciclinas durante el período de estudio.

Se observó un fenómeno semejante en el caso del cloranfenicol, aunque no tan pronunciado como en las tetraciclinas. En cuanto a la estreptomieina, se presentó la situación opuesta.

Las concentraciones de tetraciclina y cloranfenicol necesarias para inhibir el desarrollo de la mayoría de las cepas de *Shigella* estudiadas, fueron inferiores a las concentraciones de estreptomieina necesarias para lograr el mismo efecto.

No se observó ninguna diferencia significativa en la susceptibilidad a las tetraciclinas entre los diferentes serotipos de *Sh. flexneri* que fueron probados; en cambio, en el caso del cloranfenicol y de la estreptomieina, ciertos serotipos se mostraron más resistentes que otros.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean reconocer su aprecio por la ayuda técnica prestada por el siguiente personal: Señoritas Georgette Figueredo, Emma Galindo y Alicia Joachín.

Este estudio fue financiado en parte con un donativo de Lederle Laboratories Division, American Cyanamid Company, N. Y. C.

diarrea en la Ciudad de México, *Rev. Inst. Salub. y Enf. Trop.*, 13:65-69, 1953.
 (3) Olarte, J.; Ramos-Alvarez, M., y Galindo, E.: Isolation of *Shigella*, *Salmonella* and enteropathogenic *E. coli* from the rectal swabs of 802 sporadic cases of diarrhea, *Bol. Méd. Hosp. Infant. Méx.*, 14:263-268, 1957.

- (4) Huey, C. R., y Edwards, P. R.: Resistance of *Salmonella typhimurium* to Tetracyclines, *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 97:550-551, 1958.
- (5) 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.
- (6) Buttiaux, R.; Nicolle, P.; Le Minor, L., y Gaudier, B.: Etude Epidémiologique des Gastro-Enterites a *Escherichia coli* dans un service hospitalier du Nord de la France, *Arch. Malad. l'Appar. Diges.*, 45(10):225-247 1956.
- (7) De la Torre, J. A.; Olarte, J., y Joach n, A.: Treatment of shigellosis with tetracycline in children under two years of age. *Pediatrics*. En prensa, 1959.
- (8) Marberg, K.; Altmann, G., y Eshkol-Bruck, A.: Observations on Resistance to Sulfadiazine and Antibiotics in Shigellosis, *Am. Jour. Trop. Med. & Hyg.*, 7:51-57, 1958.

RESISTANCE OF SHIGELLA FLEXNERI TO TETRACYCLINES, CHLORAMPHENICOL AND STREPTOMYCIN (Summary)

The action of tetracycline, oxytetracycline, chlortetracycline, chloramphenicol and streptomycin, was studied on 131 strains of *Shigella flexneri* isolated during the years 1953, 1955, 1956, and 1957.

None of the 31 strains of *Shigella flexneri* tested in 1953 was resistant to tetracyclines. Among the strains isolated during the years 1955, 1956 and 1957, 19%, 34%, and 39%, respectively, were resistant to these antibiotics. The possible relationship between the emergence of the resistant strains and the extensive use of tetracyclines during the period of study is discussed.

A similar phenomenon was observed in the case of chloramphenicol, though not as striking as in the case of tetracycline. With streptomycin the opposite situation occurred.

The concentration of tetracyclines and chloramphenicol required to inhibit the growth of most of the susceptible strains of *Shigella* tested was smaller than that required with streptomycin.

Among the various serotypes of *Shigella flexneri* studied there was not a significant difference in resistance to tetracyclines, while with chloramphenicol and streptomycin there were certain serotypes which were more resistant than others.