

63
31



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA



**EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA**

**FRECUENCIA DE SHIGELLA EN
MUESTRAS DE ORIGEN PEDIATRICO**



T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO

P R E S E N T A :

María Abigail Martínez Rodríguez



MEXICO, D. F.

1997

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO

Presidente: Prof. Biserka Sveshtarova Pekarkova.
Vocal: Prof. María Del Carmen Cortés Decuir.
Secretario: Prof. Rafael García González.
1º Suplente: Prof. Marisol López López.
2º Suplente: Prof. Adriana Guadalupe Mejía Chávez.

Lugar donde se desarrolló la tesis.

1. LABORATORIO DE BACTERIOLOGIA.

Departamento De Ecología Humana.
Facultad de Medicina, Cd. Universitaria.


2. INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA.

Laboratorio De Bacteriología.
Av. Imán E Insurgentes.

Asesor y Supervisor Técnico.


Prof. Rafael García González

Sustentante



Q.F.B. María Abigail Martínez
Rodríguez.

Con cariño y respeto a mis PADRES.

HACIA EL SENDERO

No busco una causa, ni espero que haya una necesidad
No pido un gran ingenio, ni pretendo ser un genio,
solo anhelo la tenacidad que tiene el hierro, para descubrir,
el camino dentro de los cúmulos conglomerados del conocimiento .

Llegar a las propias entrañas y socrar la sed del saber.
Más la necesidad no obliga, la causa no obliga,
pero... somos títeres de la curiosidad de conocer y aprender.

Y con una idea fija en la mente,
una sola cosa que pensar y muchas aún por descubrir...

Ando en busca de la felicidad,
la felicidad completa,
gozando de la fuente inagotable del SABER.

María Abigail Martínez Rodríguez

INDICE

	No. Pág.
Prólogo	V
Introducción	VI
Objetivos	VII
Hipótesis	VII
CAPITULO I. EPIDEMIOLOGÍA DE LAS DIARREAS	
1.1	01
1.2	05
1.3	08
CAPITULO II. DIARREA PRODUCIDA POR SHIGELLA.	
2.1	09
2.2	10
2.3	10
2.4	11
2.5	12
2.6	13
2.7	14
2.8	14
2.9	15
2.10	16
2.11	18
2.12	19
CAPITULO III. PARTE EXPERIMENTAL.	
3.1	22
3.1.1	22
3.1.2	22
3.1.3	22
3.1.4	22
3.1.5	23
3.1.6	23
3.2	24
3.2.1	24
3.2.2	24
3.2.3	25
3.2.4	25
3.2.5	29
CAPITULO IV. RESULTADOS	32
CAPITULO V. ANALISIS DE RESULTADOS	41
CAPITULO VI. CONCLUSIONES	43
Anexo	44
Bibliografía.	48

Prólogo

Los padecimientos diarreicos ocupan un lugar importante entre las causas de morbilidad y mortalidad, contribuyendo con tasas altas, sobre todo en los niños menores de dos años.

Su etiología es múltiple, ocupando un lugar primordial las infecciones producidas por los miembros del género Shigella.

Los resultados de estudios epidemiológicos y de laboratorio, coinciden en señalar la importancia del género Shigella, como agente etiológico de diarrea. En diferentes estudios, se ha demostrado que Shigella es la bacteria más frecuente aislada de niños con gastroenteritis, aunque su incidencia es variable.

El presente estudio se dirige a determinar la frecuencia de Shigella sp. durante el periodo de un año, determinando sus patrones de resistencia a agentes antimicrobianos de las cepas aisladas e identificadas.

La metodología empleada fue el aislamiento a partir de materia fecal, la identificación bioquímica de los microorganismos y su comportamiento frente a antimicrobianos de uso común.

INTRODUCCIÓN .

Las enfermedades diarreicas constituyen una de las principales causas de morbilidad y mortalidad infantil en nuestro país.

Se estima que las enfermedades diarreicas, causan cinco millones de muertes entre los niños menores de cinco años en todo el mundo. En los últimos años, se ha reconocido que la terapia de hidratación oral, es un método eficaz para reducir dicha mortalidad, y ha sido promovido por los gobiernos de muchos países en desarrollo, como el sostén principal del control de la mortalidad de la diarrea aguda. Sin embargo, no se ha logrado reducción similar en la mortalidad por disentería con la aplicación de hidratación oral debido a que, en ellas no desempeña un papel importante la deshidratación como la manifestación clínica originada por Shigella.

La aparición esporádica de brotes epidémicos de diarreas infecciosas en unidades de recién nacidos, es un hecho conocido y cuando ocurre, adquiere características dramáticas, ya que la mortalidad es alta, afectando principalmente a niños de bajo peso y prematuros, en zonas pobres donde no se tiene control higiénico adecuado, así como en cuneros.

Debido a varias características epidemiológicas sobresalientes de Shigella, se considera que se adapta al huésped humano, la dosis infectante es pequeña, con bacterias como 10 a 100 de S. dysenteriae tipo I o unos miles de S. flexneri son suficientes para producir enfermedad en adultos, el microorganismo es resistente al ácido gástrico y también es capaz de adquirir resistencia antimicrobiana.

Cepas de Salmonella, Shigella, Campylobacter y otras como Yersinia enterocolitica y algunos virus, pueden estar involucrados en las diarreas del recién nacido, como agentes etiológicos.

La infección por Shigella sp es rara durante el período neonatal, incluyendo áreas endémicas, como la nuestra, donde las diarreas, son principalmente producidas por rotavirus.

En el caso de diarrea causada por Shigella se ha calculado su participación en un 12% en recién nacidos con diarreas graves.

Después de los seis meses de edad aumenta la incidencia de gastroenteritis por Shigella, ya que se inicia el destete y la alimentación complementaria. La fuente principal de infección contaminación de los alimentos con materia fecal.

Shigella se divide en cuatro especies de acuerdo a sus características antigénicas; S. dysenteriae (grupo A), S. boydii (grupo C), S. flexneri (grupo B) y S. sonnei (grupo D). La segunda de ellas es la que con mayor frecuencia se ha encontrado en las heces del recién nacido con diarrea.

Dado que las enfermedades infecciosas por Shigella son una de las principales causas de morbilidad y mortalidad y dentro de ellas la diarrea ocupa un sitio importante.

El presente trabajo tuvo por objeto, conocer el estado actual de las infecciones causadas por Shigella en el Instituto Nacional de Pediatría (INP).

OBJETIVO

Conocer la frecuencia de Shigella en enfermedades diarreicas en el periodo de un año.

Determinar cuál es la especie de Shigella de mayor frecuencia en las infecciones diarreicas en niños.

Conocer el seguimiento de alimentación que se debe llevar a cabo durante las diarreas.

Realizar pruebas de sensibilidad frente a antibióticos de uso común.

Observar la resistencia de cada cepa frente a diferentes antibióticos: Aminoglucósidos, Cefalosporinas, Aminopenicilinas y Penicilinas de amplio espectro.

HIPÓTESIS.

La presencia de Shigella durante todo el año, los problemas diarreicos que ocasiona en su mayoría, hacen pensar que las especies han variado en incidencia y frecuencia de acuerdo a los factores climáticos de las estaciones del año y su sensibilidad frente a los antibióticos de uso común.

CAPITULO I. EPIDEMIOLOGÍA DE LAS DIARREAS.

1.1 COMO PROBLEMA MUNDIAL.

Las enfermedades diarreicas, constituyen uno de los problemas de salud pública más importantes en los países en vías de desarrollo, encontrándose en ellos, la tasa de mortalidad en niños menores de cinco años, mayor durante los dos primeros años de vida, con una tasa media de 20 muertes por año (1,4,46).

La tasa de mortalidad se reduce a una tercera parte en niños de dos a cuatro años de edad, resultando una tasa media de 13,6 muertes por cada 1000 niños menores de cinco años, por año. Siendo generalmente mayor la frecuencia en Asia, con respecto a África, y Latinoamérica, entre otras (Ver mapa 1) (10,14,18).

Analizando comunidades pequeñas, la tasa media de morbilidad por diarrea en niños menores de cinco años para África, Asia y Latinoamérica en el año 1980, se estimaron 744 millones de episodios de este cuadro diarreico y el número de muertes en este mismo grupo etario, fue de 4,6 millones (5,45).

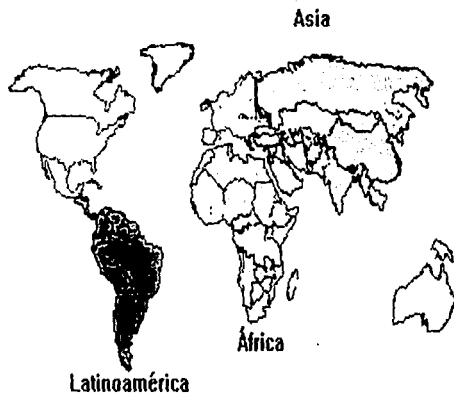
En los países de Latinoamérica, la mortalidad infantil ha disminuido en promedio de 72 por cada 1000 nacidos vivos en 1960, a 48 en 1977. Entre los países que mantienen elevadas las tasas de mortalidad infantil, están: Perú, Honduras, Ecuador y Guatemala, persistiendo como una causa importante de muerte (44, 51).

Sin embargo es necesario estimar que las enfermedades diarreicas, reúnan las condiciones de severidad para ser clasificadas como tales ya que son ellas las que en su mayoría contribuirán a la mortalidad, causada por esta enfermedad.

Viéndose en la necesidad de estimar el impacto que tienen ciertos enteropatógenos en la población infantil menor de cinco años, en países en vías de desarrollo (10, 42).

En 1984 se estimó el número de episodios de diarreas en menores de cinco años, clasificados según su severidad y etiología, en las diferentes regiones del mundo, apreciando que sólo un 10% del total, podrían ser clasificados como: 8% moderados y 2% severos del total de episodios, llevan al niño a la muerte.

MAPA I. Continentes con mayor incidencia de diarrea durante 1981-1986.



1. Mayor
2. Media
3. Baja

Tasa de Mortalidad : Asia (1), África (2) y Latinoamérica (3).

Tasa de Morbilidad : África (1), Asia (2) y Latinoamérica (3).

Estas cifras permiten apreciar que el 90% de los episodios diarreicos en niños menores de cinco años, no tendrá mayor impacto en la incidencia de la deshidratación y consecutivamente la muerte de estos niños (ver tabla 1 y 2) (5, 9) .

Existe la necesidad de realizar estudios que permitan identificar tempranamente la frecuencia de estos cuadros severos de diarrea a través de la educación de la madre, para reconocerlos y tratarlos adecuadamente mediante el uso de terapia de rehidratación oral (21,22,35,36).

CAUSANDO:

Tabla 1. DIARREA CAUSADA EN NIÑOS MENORES DE CINCO AÑOS EN 1980. (46) .

	Total de Episodios	Casos Moderados-Severos	Muertes
Africa	35, 623	5,130	243
Asia	75, 889	10,928	515
Latinoamérica	16,850	2,426	114

Tabla 2. DIARREA POR SHIGELLOSIS EN NIÑOS MENORES DE CINCO AÑOS EN 1984 (4).

	Total de Episodios	Casos moderados-Severos	Muertes
Africa	39,398	4,549	145
Asia	83,931	9,692	310
Latinoamérica	18,636	2,152	69

Las diarreas causadas por Escherichia coli enterotoxigénica (ECTE), son estimadas en un 22.4 % del total de los episodios causados por esta bacteria, en niños menores de cinco años en 1984, infecciones de 98 % como moderadas o severas, estimándose una tasa de mortalidad de 1.8 muertes por cada 1000 casos de diarrea por ECTE. Rotavirus causó un total de 7.4 % de episodios, por un porcentaje mayor, clasificado severo de 14.4 % equivalente al 1% del total de diarreas, y una tasa de mortalidad de 6.8 muertes por cada 1000 casos de diarreas por rotavirus (4,46).

Se estimó que Shigella produjo 8.1% episodios, de los cuales 11.5% fueron moderados o severos correspondientes a 3 7 de cada 1000 casos de diarreas causadas por Shigella.

Finalmente el cólera, en las áreas donde es endémico o epidémico (principalmente Asia y África), se produjeron 28% de episodios de cólera moderadas o severas y su tasa de mortalidad fue de 15.9 muertes por cada 1000 casos de diarrea por cólera, sin tomar en cuenta la epidemia desatada en América. De aquí se desprende que rotavirus es probablemente el agente de mayor número de muertes, a pesar de causar menos de la mitad de los episodios de ECTE. Este se confirma demostrando en una serie de estudios que rotavirus se encuentra asociado con 50% de los niños hospitalizados con deshidratación y diarrea, mientras que sólo causa de 3 a 7 % de los episodios de esta comunidad (3,16,17,25).

La mortalidad por enfermedades diarreicas agudas se deben principalmente a la deshidratación. Esto resulta de una mayor pérdida de líquidos y sales, en comparación con los ingeridos.

Actualmente se ha demostrado la eficacia del uso de las sales de hidratación oral según la fórmula promulgada por la Organización Mundial de la Salud (OMS), previniendo la aparición de complicaciones y la muerte.

Las diarreas causadas por rotavirus y E.coli, son generalmente de mayor duración que las producidas por Shigella y por Campylobacter jejuni, estando estos últimos agentes, asociados en forma significativa con episodios de más de tres semanas de duración (37,44).

Una complicación importante de las enfermedades diarreicas, es la mala nutrición infantil, ya que las enfermedades diarreicas tienen uno de los mayores impactos negativos en el crecimiento de los niños en desarrollo (13,15).

Las razones por las cuales existen un impacto negativo de las diarreas en el catabolismo, es la presencia de mala absorción de la ingesta dietética debido a la enfermedad por una dieta pobre en calorías y proteínas comúnmente empleadas en este tipo de enfermedades (43,49).

La pérdida de nutrientes ingeridos por el niño durante la enfermedad, puede deberse a un tránsito intestinal acelerado o a la presencia de mala absorción, resultante de una disminución transitoria de enzimas digestivas, daño de la mucosa intestinal o por colonización bacteriana del intestino delgado. (37).

En un estudio realizado en Perú, se demuestra que el impacto nutricional de las diarreas de los niños. Podría ser controlado mediante una adecuada ingesta dietética durante la diarrea. (5,19,20).

Otro estudio realizado en Estados Unidos a principios y mediados del decenio de 1980, principalmente en varones jóvenes homosexuales, atribuyen, la diseminación fácilmente por las prácticas de sexo oro-anal.

De manera más reducida pero como consecuencia de su dosis infectante menor, Shigella se transmite fácilmente de persona a persona, al nadar en albercas frecuentadas por niños de edad preescolar, frutas tales como el melón, que para aumentar su peso inyectan agua, y de esta manera ha transmitido shigelosis desde el norte de África hasta Europa

La Shigelosis, es una enfermedad principalmente de personas jóvenes, mal llamada enfermedad de la pobreza y en su mayoría de los casos documentados ocurren en lactantes de cinco meses a cinco años de edad (50,51)

1.2 MORTALIDAD Y MORBILIDAD EN MÉXICO.

México se encuentra entre las Naciones con tasas de mortalidad más elevadas del mundo. Las diarreas ocupan el segundo lugar como causa de enfermedad y muerte

La dirección general de epidemiología de la Secretaría de Salud (4,14) realizó durante el lapso de Noviembre de 1988, un estudio a un marco muestral representativo del país, en el que se determinó que el riesgo de morir por diarreas es 10 veces mayor en el Sureste que en el Norte de México, la mortalidad regional en el orden ascendente, es: Norte-Noroeste, Península de Yucatán, Centro-Occidente, Centro-Oriente y Pacífico Suroeste. Se investigaron a 92400 personas que habían padecido algún episodio diarreico en las últimas dos semanas, presentando 830 defunciones al año y 350 fallecimientos asociados con diarrea (2,5,19).

Aquellas entidades con menor desarrollo socioeconómico y mayor retraso educativo, tienen alto riesgo de padecer episodios de diarreas y por lo tanto peligro de muerte, ya que estas son las responsables en los estados de mayor riesgo. Se ha demostrado que Chiapas, Oaxaca, Puebla, Michoacán y Veracruz son entidades con las tasas de letalidad más altas por diarreas, seguidos por los estados de la frontera, con excepción de Tamaulipas. Los estados de la frontera Norte, Durango y Baja California Sur están en los de menor riesgo. El resto como estados intermedios (Ver mapa II y III) (3,13,19,25, 32)

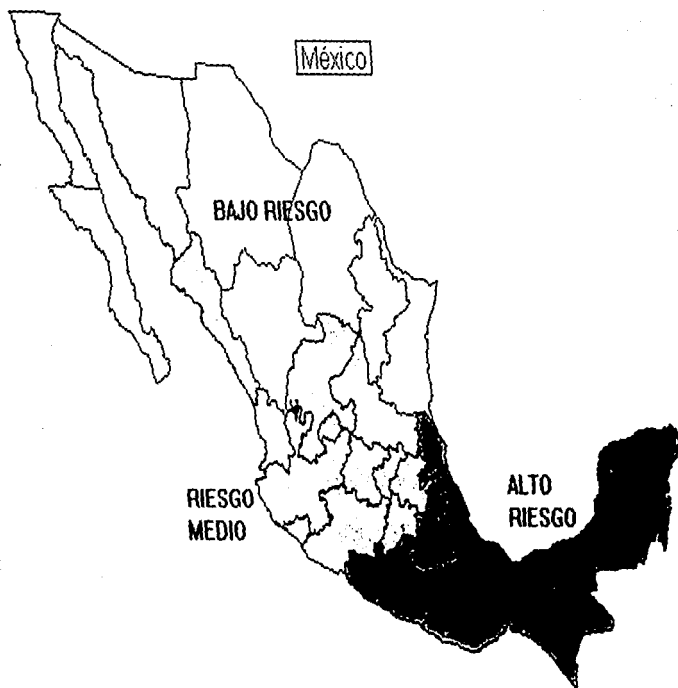
El estado nutricional y la desnutrición grave (tercer grado) se asoció con un mayor número de episodios de diarrea al año en todas las localidades, independientemente del tamaño de la población. Los cuadros diarreicos son más frecuentes en las familias que no disponen de agua intradomiciliaria o de pozo que lo hacen de un hidrante o a través de camiones cisterna. En los cuadros clínicos como era de esperarse, la deshidratación fue más frecuente entre los lactantes así como la frecuencia de sangre en las evacuaciones fue semejante en la edad pediátrica, con tendencia al avanzar la edad. Por lo tanto, se puede concluir que la diarrea, es un factor importante en la morbilidad de las edades pediátricas, en proporción inversa a la edad.(34,40,43,46).

MAPA II. Tasa de Morbilidad en lactantes y preescolares.
Encuesta Nacional. Dirección General de Epidemiología 1982.



MAPA III. Tasa de morbilidad en lactantes y preescolares

Encuesta Nacional. Dirección General de Epidemiología 1986.



1.3 AGENTES ETIOLÓGICOS CAUSANTES DE DIARREAS.

En la etiología de las enfermedades diarreicas, participan tres grandes grupos de microorganismos; bacterias, virus y protozoarios. El primero, comprende la mayor variedad de gérmenes distribuidos en cuatro familias diferentes; Enterobacteriaceae, Bacillaceae, Spirillaceae y Vibrionaceae (9,27).

Estas a su vez, están formadas de varios géneros; Escherichia, Salmonella, Shigella, Yersinia, etc., que corresponden a la familia Enterobacteriaceae (3,4,5).

Vibrio, Aeromonas y Plesiomonas a la familia Vibrionaceae.

Campylobacter, a la Spirillaceae y a la familia Bacillaceae con excepción de bacilos generalmente Gram positivos formadores de esporas (3,17).

Se considera fuera de este grupo a las bacterias oportunistas, pertenecientes a los géneros Klebsiella, Proteus y Pseudomonas, quienes también ocasionan casos aislados o brotes de diarrea en individuos con problemas de inmunodeficiencia bajo quimioterapia, enfermos con problemas de procesos neoplásicos graves y niños prematuros (7,8,12).

CAPITULO II. DIARREA PRODUCIDA POR SHIGELLA.

2.1 CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS Y METABÓLICAS DE SHIGELLA.

Shigella pertenece a la familia Enterobacteriaceae, formada por pequeños bastoncillos, Gram negativos, aerobios facultativos, capaz de crecer en medios selectivos u ordinarios. Fermentan la glucosa y otros carbohidratos, reduce los nitratos a nitritos, son oxidasa negativa y quimiorganotróficos (27).

El género Shigella lo componen bacterias inmóviles que fermentan la glucosa; no fermentan la lactosa, aunque algunas cepas de Shigella sonnei lo hacen lentamente, y algunas de ellas fermentan adonitol e inositol. No producen H₂S (3,4,11)

Todas las especies son patógenas para el hombre y algunos primates aunque para otros animales el único reservorio conocido es el hombre causando en éste disentería bacilar (49).

CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS.

Voges - Proskaver (-)	Lactosa (-)	Indol (+/-)
Fenil - Alanina (-)	Glucosa (+)	Movilidad (-)
Rojo de Metilo (+)	Adonitol (+/-)	Urea (-)
H ₂ S (-)	Gas (-)	Malonato (-)
		Citrato (-)

Al igual que otras, enterobacterias crecen con facilidad tanto en condiciones aerobias como anaerobias (3,13).

El aspecto de la colonia varía de acuerdo al medio selectivo que se utilice; en agar verde brillante (VB) las colonias son rojas, lisas y brillantes, en agar xilosa-lisina-desoxicolato (XLD), las colonias son transparentes rojas rodeadas de una zona roja transparente, en el agar Mac Conkey son colonias pequeñas, redondas e incoloras, y en Agar Salmonella-Shigella (SS) las colonias son también transparentes de 2 a 7 mm aplanadas e irregulares, aunque para S.sonnei pueden ser grandes, aplanadas e irregulares.

Para la identificación de la especie se lleva a cabo (LOA): Lisina, Ornitina y Arginina, adicionando carbohidratos (3,25).

2.2 ANTÍGENOS DE SUPERFICIE DE SHIGELLA.

Shigella posee antígenos de superficie somáticos, que especifican la especie y el serotipo al que pertenecen (24,30). El género comprende cuatro especies: Shigella dysenteriae con 10 serotipos, Shigella flexneri con 6 serotipos y Shigella sonnei con un serotipo y Shigella boydi 15 serotipos (27).

Estas especies se reconocen también bajo la denominación de grupos o subgrupos serológicos A,B,C y D. En cada grupo o especie, los serogrupos se designan con números arábigos.

En la ciudad de México, predominan S. flexneri con los serotipos 2,6,4 y 3; seguidos de S. sonnei que presenta el 18 y 19.

Los serotipos de los grupos S. dysenteriae y S. boydi son poco comunes. Por alguna razón epidemiológica en los países industrializados se invierte el predominio de los grupos de S. boydi y S. dysenteriae, que son poco comunes, por alguna razón epidemiológica, en los países industrializados se invierte el predominio de los grupos de S. flexneri y S. sonnei, siendo más común éste último.

Los genes que determinan el poder invasivo de Shigella residen en un plásmido relativamente grande, de 40 megadaltones.

Aunque a principios de siglo se observó que S. dysenteriae 1 ó bacilo de Shiga, producía una toxina, y fue en los años recientes en los que al lograr su aislamiento y purificación, se ha podido estudiar que su acción es de naturaleza proteica, con actividad neurotóxica, citotóxica y enterotóxica, neutralizable por anticuerpos específicos (7,11).

Se han encontrado además, del bacilo de Shiga, otras Shigellas de las especies S. flexneri y S. sonnei, productoras de la misma toxina, aunque en cantidades inferiores a S. dysenteriae. No se ha podido demostrar con toda claridad, el papel de la toxina en la patogénesis de la enfermedad pero se supone que participa en la fase secretora de la misma, sin que sea un factor de virulencia esencial (2,7,8).

2.3 PLÁSMIDOS EN ENTEROBACTERIAS DEL GENERO SHIGELLA.

Las bacterias contienen a menudo además del cromosoma circular de un gran tamaño, diversas moléculas cíclicas de DNA de tamaño pequeño, que se replican de forma autónoma y reciben el nombre de plásmidos, también llamados factores extracromosómicos. La mayoría de estos han sido descubiertos a través de alguna reacción reconocible. Se comprobó que ciertas cepas resistentes a agentes antimicrobianos (11,12), existen en la naturaleza, gracias a un mecanismo que se basa en la infección de la bacteria por un (28,30) plásmido que es portador de los genes que determinan la resistencia.

Los plásmidos tienen la capacidad de interactuar con los agentes como somáticos de otras bacterias, dando como resultado una cepa de alta frecuencia de recombinación HFr (33,38).

Los plásmidos R confieren resistencia a una o más drogas antimicrobianas, siendo comunes en *E. coli* y *Salmonella*. Los plásmidos col, codifican proteínas llamadas colicinas con propiedades antimicrobianas. Los plásmidos que confieren patogenicidad, codifican para enzimas catabólicas, incrementando la patogenicidad en las bacterias. Pertenecen a este grupo, los plásmidos que determinan la síntesis de enterotoxinas, cuya producción daña al organismo en que habita la bacteria al igual que los plásmidos H 1 y K, características de *E. coli*.

Otros son los plásmidos que relacionados con la virulencia, aumentan la patogenicidad de las bacterias que los presentan, un ejemplo de ellos son aquellos que se encuentran en el género *Shigella*.

Algunos plásmidos les confieren resistencia a metales pesados, tales como Cobalto, Níquel, Mercurio y Arsenato, en *E. coli*, *Salmonella* y *Pseudomonas*, entre otras (32-41)

En las bacterias se encuentran uno o más plásmidos que pueden coexistir, llamados compatibles e incompatibles, aquellos que no puedan coexistir

Se conocen dos tipos de plásmidos, no conjugativos que no se pueden transferir de una bacteria a otra, de peso molecular mayor de 40×10^6 , manteniendo en una o dos copias por cromosoma bacteriano, y plásmidos conjugativos de peso molecular menor de 10×10^6 , que tienen la capacidad de ser amplificados aproximadamente en 15 copias por cromosoma bacteriano (26,28,30).

La replicación vegetativa de un plásmido depende de su tamaño y ocurre durante el ciclo celular normal. Los plásmidos de peso molecular mayor de 30×10^6 se presentan de una a 3 copias por célula, y los plásmidos menores de 30×10^6 se presentan más de 10 por célula.

Los plásmidos presentan secuencias de inserción y transposones, también presentes en los cromosomas bacterianos y fagos. Las frecuencias de inserción son elementos genéticos de 769 a 5,700 pares de bases, responsables entre la intersección que hay entre plásmidos y los cromosomas bacterianos. Los transposones, también elementos genéticos, tienen un tamaño que va de 1,000 a 20,000 pares de bases. Tienen la característica de replicarse por sí mismos e insertarse en moléculas de ADN que tenga o no secuencia de homología. Codifican para muchas de las características del plásmido (como resistencia a antimicrobianos, metales pesados, etc.) Tienen en sus extremos secuencias repetidas invertidas cuyo tamaño varía de 38 a 1,500 pares de bases.

La replicación de los plásmidos se hallan en relación a la replicación del cromosoma del huésped. En el caso de los plásmidos de gran tamaño, la replicación es prácticamente sincrónica a la del cromosoma. En cambio, la replicación de los plásmidos de tamaño pequeño es asincrónica (28,29,48).

2.4 MECANISMO DE PATOGENISIDAD.

Toxina de Shiga, *S. dysenteriae* tipo I, *S. sonnei*, así como *S. flexneri* son prácticamente indistinguibles de *E. coli*, enteroinvasiva, las cuales, causan una disfunción intestinal caracterizada por evacuaciones diarreicas. Esta disfunción, se encuentra localizada a nivel del intestino delgado afectando posteriormente el epitelio del colon, en donde se genera un proceso necrótico, el cual se encuentra asociado con evacuaciones sangrientas (disenteria).

La explicación de este hecho en el cual se presentan dos fases, una ubicada en el intestino delgado y otra a nivel de colon, no han sido resueltas.

En 1910 Conradi, demostró que el filtrado de un cultivo de S.dysenteriae I (el agente causal más importante de disentería contenía un componente con actividad neurotóxica, que al ser inyectado en animales susceptibles, ocasionó la parálisis y muerte del animal. El mismo material administrado a conejos y cobayos causaba lesiones en el ciego, semejantes a las producidas en el humano durante la Shigellosis (47,51).

En 1920, los trabajos de Olitsky y Kligler, demostraron que la preparación con actividad neurotóxica, contenía dos constituyentes biológicamente activos: una proteína con actividad tóxica, responsable de las lesiones a nivel intestinal (51,25).

Durante algún tiempo, se descartó la posibilidad de la participación del componente neurotóxico, ya que esté no causa lesiones similares durante la Shigellosis en el humano.

En 1970 resurge el cuestionamiento sobre el papel de la toxina de Shiga purificándose una proteína con actividad sobre asa ligada del intestino del conejo, en el cual, se indujo la acumulación de líquido y cambios histopatológicos en la misma mucosa intestinal las cuales semejaban lesiones tempranas, observadas después de la administración oral (con la bacteria viva), esta preparación, al ser inyectada en ratones, también causaba lesiones neurológicas semejante a las descritas por Conradi (23,24).

No hay datos que permitan separar la actividad citotóxica y enterotóxica de la toxina de Shiga, que aparentemente es la misma molécula, ya que, anticuerpos contra la toxina neutralizan las tres actividades (28 ,29).

2.5 ESTRUCTURA BIOQUÍMICA Y MODO DE ACCIÓN DE LA TOXINA DE SHIGA.

La toxina es una proteína no glicosilada, del tipo de las estructuras A y B.

La subunidad activa, es la parte A, con un peso molecular de 32,000 la cual requiere ser sometida a la actividad proteolítica, para dar origen a la subunidad A₁ de peso molecular de 28000-29000 y la subunidad A₂ de 300 como peso molecular.

A₁ es activa catalíticamente hablando, y su mecanismo de acción es inhibiendo la síntesis de proteínas a través de su capacidad para inactivar la subunidad ribosomal 60s. Y la subunidad B₁ ligada a N-Acetil-Glucosamina, que se encuentra también presente en las vellosidades del intestino delgado del conejo.

Una explicación de como la toxina de Shiga causa la diarrea en la Shigellosis es a través de la muerte causada por la inhibición de la síntesis de proteínas, lo que finalmente lleva a una inhibición activa de éstas. (32,33,50).

2.6 HISTOPATOLOGIA.

Las Shigellas son menos invasoras que las Salmonellas en el hombre, primates y ocasionalmente perros.

Excepcionalmente las Shigellas, muestran localización extraintestinal y difícilmente casos de bacteremia en enfermos graves, así como vulvovaginitis en niñas.(9,24). La bacteremia aunque difícil pero actualmente tiene preferencia en enfermos comprometidos con HIV⁺ (52,54).

La infección predomina en el sexo masculino, recién nacidos, prematuros y niños de bajo peso, entre ellos hay una mayor susceptibilidad en el neonato. La fuente de contaminación es la orofecal, ya que una vez ingerido el microorganismo usualmente invade el recto e intestino delgado, pero en casos severos afecta la parte terminal del ileon donde se multiplica e invade las células epiteliales del colon, elaborando su toxina. Típicamente hay inflamación aguda con ulceraciones en el epitelio; los microorganismos raramente invaden la lamina propia y no es común que invada torrente sanguíneo. Las infecciones debidas a S. sonnei se extienden más allá de la fase inflamatoria epitelial, pero las ocasionadas por S. dysenteriae o cepas de S. flexneri que a menudo causan inflamación como parte de la infección.

Las propiedades invasoras de Shigella, han sido demostradas, usando pruebas para producir querato-conjuntivitis en la conjuntiva del cobajo (prueba de Sereny) y la invasión de cultivos de células HeLa.

Las lesiones producidas en el conducto gastrointestinal se limitan generalmente a la porción terminal del ileon y del colon, estas lesiones son principalmente ulceraciones de la mucosa, cubiertas por una pseudomembrana formada por leucocitos, polimorfos nucleares, restos celulares y bacterias englobadas en una trama de fibrina. Al parecer las lesiones se producen en el momento en que los microorganismos atraviesan la barrera epitelial e invaden la lamina propia; el acúmulo local de productos metabólicos y la liberación de endotoxinas, dan lugar a células epiteliales, durante el proceso de restablecimiento de la enfermedad, las ulceraciones son ocupadas por tejido de granulación y llegan a cicatrizar.

Es común la presencia de sangre, con moco en las heces. Durante la convalecencia aparecen aglutininas específicas y pueden encontrarse anticuerpos en las heces.(31,39,53).

Se han dado casos de queratoconjuntivitis causados por S. flexneri y S. sonnei (14), y raros de Osteomielitis causada por S. flexneri. Un estudio realizado en Japón aproximadamente durante 8 años, determino la especie más frecuente durante este periodo fue S. sonnei 57.9%, S. flexneri 29.2%, S. boydii 8.6% y 4.3% a S. dysenteriae (13).

2.7 MANIFESTACIONES CLÍNICAS.

Tras un período de incubación de 72 hrs. la enfermedad comienza en forma brusca y violenta, con retorcijones, diarrea acuosa de hasta 30 deposiciones diarias, con frecuencia; fiebre que puede alcanzar los 40°C. Ocasionalmente hay náuseas y vómitos, así como dolores musculares generalizados. Esta fase dura sólo de uno a tres días, puede llamarse de leptointeritis, pues correspondería la inflamación del intestino delgado (6). Las pérdidas de líquidos y electrolitos, debidas probablemente a la acción de la enterotoxina, son considerables, pero es raro que deshidraten amenazadoramente al paciente, excepto niños pequeños y ancianos debilitados (2). Si el proceso no se detiene, espontáneamente como sucede en formas leves, o con el tratamiento oportuno se llega a la enfermedad o disentería propiamente dicha, que puede variar su duración de una a varias semanas (hasta 3 ó 4). Persisten los dolores abdominales de tipo cólico, que se hacen más intensos. (3,7)

En cambio la fiebre cede totalmente o, persiste como febrícula. Las características de las evacuaciones cambian por completo, pues son sustituidas por expulsión de moco hialino o teñido por sangre, e incluso a veces de pus. El número de evacuaciones suele ser de 15-30, pero en casos graves por S. dysenteriae pueden llegar a ser hasta cercanas a 100. El paciente aqueja continuamente sensación de ocupación rectal, con pujos y tenesmo, produciéndose el espasmo anorectal.

La exploración física revela el abdomen hundido y doloroso a la presión, no suele presentarse anemia. (38).

2.8 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y COMPLICACIONES.

Ya que los bacilos, disentéricos son organismos que se eliminan en gran número durante la fase activa de la enfermedad, sólo permanecen viables en las heces durante un corto período de tiempo, por lo cual, debe sembrarse la muestra, para su cultivo rápidamente. El mejor método para obtener las muestras para el cultivo es por medio de un escobillón-rectal. Cuando las muestras se obtienen por observación directa con sigmoidoscopio, es probable que contengan los organismos responsables. Los medios de cultivo donde se desarrollan son: Agar Mac Conkey, Agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato ó Agar Eosina-Azul de Metieno, y Salmonella-Shigella preferentemente. El microorganismo se identifica mediante pruebas bioquímicas y de aglutinación específica (3,4, y 10).

Las pruebas de aglutinación específica permiten una vez identificada la especie conocer el grupo y serotipo al que pertenece, como se indica posteriormente (23, 24).

ESPECIE	GRUPO	SEROTIPO
<u>S. dysenteriae</u>	A, A ₁	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10
<u>S. flexneri</u>	B	1a, 2a, 3a y 4a 1b 2b, 3b y 4b 3c, 5, 6, X y Y
<u>S. boydii</u>	C, C ₁ , y C ₂	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 y 15
<u>S. sonnei</u>	D	Tipo I y Tipo II

Es importante considerar durante el proceso diarreico, lo típico de este el curso agudo febril, con pujo, tenesmo rectal, heces acompañadas de moco, sangre y pus que se presentan inicialmente, sin que se alcance la disentería clínicamente evidente. Pero aún entonces, el examen microscópico de las heces pueden ser de gran ayuda. Para ello se mezcla, una gota de heces con dos de azul de metileno, se coloca un cubreobjetos y se examina al microscopio. La presencia de leucocitos y polimorfos nucleares son un dato valioso a favor de Shigella, pues en salmonelosis también hay leucocitos y predominan los mononucleares, mientras que en los síndromes diarreicos causados por E. coli enterotoxigénica y V. cholerae no hay leucocitos de ninguna clase. (3,15)

Con todo, esta regla es orientadora y tiene excepciones. Así, en la colitis ulcerosa grave, hay muchos leucocitos, además de úlceras, por lo que cabe la confusión, diagnóstica no recurrir al coprocultivo. Se da el hecho de que algunos pacientes con disentería por Shigella, han sido sometidos a colectomía por creérseles afectados de aquella enfermedad.

Por lo dicho, el diagnóstico definitivo se basa en el aislamiento de Shigella. Para ello hay que obtener una muestra de heces con moco y sangre recientes, o bien tomar un frotis rectal o aún mejor de una úlcera colónica con sigmoidoscopia inoculando en los medios de cultivo habituales o si se requiere, un medio de transporte adecuado (3,48).

Las complicaciones de estas son muy raras, pero posibles, tales como la bacteremia que es tan rara que prácticamente, carece de interés diagnóstico, pero, se han descrito focos metastásicos con abscesos y meningitis. El síndrome de Reiter, de causa desconocida, se ha descrito tras Shigeliosis con sujetos portadores de antígeno de histocompatibilidad HLA-B27 (15,49,51)

2.9 SENSIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS.

En los últimos años, el mejoramiento de las condiciones sanitarias, el uso masivo de diversas vacunas y la terapéutica antimicrobiana, han elevado el nivel de vida de la población. La introducción de antibióticos ha regulado y reducido extraordinariamente la mortalidad. Sin embargo, el uso indiscriminado y abusivo de ellos, ha motivado la aparición de multiresistencia bacteriana que compromete su eficacia, y la emergencia de las llamadas superinfecciones, es decir, infecciones por gérmenes (bacterias) resistentes a los antibióticos utilizados, que aprovechan el vacío ecológico creado por ellos, para multiplicarse y generar patología (28, 29) .

Cuando se desconoce el agente causal, pero se sospecha de uno en especial, se procede a apoyar el diagnóstico por el resultado de laboratorio y establecer un diagnóstico, seguro apoyado de un antibiograma para iniciar el tratamiento, con el antibiótico adecuado.

Con respecto al valor del antibiograma, hay que tomar en cuenta, que la bacteria aislada, sea la responsable de la enfermedad in vitro y la efectividad clínica, la combinación de antibióticos puede estar indicado o resultar incluso obligado. Considerando su mecanismo de acción, los antibióticos se dividen en los que interfieren en la síntesis de la pared celular bacteriana o alteran la permeabilidad de la membrana celular y también lo que inhiben la síntesis proteica ó bien tienen acción selectiva sobre el DNA ó RNA.

En el primer grupo, se incluyen la mayoría de los antibióticos bactericidas y en el segundo los llamados bacteriostáticos.

Los antibióticos bactericidas actúan afectando las reacciones bioquímicas propias de las bacterias, y consecuentemente la destrucción directa de la bacteria patógena, en cambio, los antibióticos bacteriostáticos, bloquean primariamente la síntesis proteica y pueden interferir en sus reacciones metabólicas de crecimiento y reproducción comprometiéndolo al huésped a completar la destrucción final de la bacteria. Considerando que casi todos los antibióticos que inhiben la síntesis de DNA y RNA son citotóxicos, algunos se emplean en enfermedades neoplásicas.

Entre los antibióticos se conocen como bactericidas: las penicilinas, cefalosporinas, aminoglucósidos, colimicina, cotrimoxazol, vancomicina y rifampicina. Son bacteriostáticos; las tetraciclinas, cloranfenicol, macrólidos y la novobiocina.

La resistencia se promueve por (26,27) la administración indiscriminada, facilitando así la selección de variantes y adaptaciones

Ciertamente hay otros factores que afectan la eficacia de la terapéutica con antibióticos, como son la localización del foco de infección, la posibilidad de conseguir una concentración adecuada en este sitio y los cambios químicos en el antibiótico durante su transporte a través de los tejidos. Por lo que se eligen pruebas in vitro del antibiótico contra el microorganismo o agente causal, para que el antibiótico afecte "idealmente".

Los métodos empleados son:

El método de difusión, de discos impregnados con cantidades conocidas de antibióticos que se colocan en la superficie de placas de petri, sembradas previamente con los microorganismos del que se desea conocer la sensibilidad a través de las zonas de inhibición del crecimiento alrededor del disco de papel impregnado con el fármaco. Considerando que el diámetro de inhibición representará la sensibilidad, poca sensibilidad o resistencia de la cepa a los antibióticos con los que se enfrentó. Sin pasar por alto que los discos se encuentran en condiciones adecuadas de conservación, almacenamiento y fechas de caducidad variables (no caducas).

Otro procedimiento es el método de diluciones en tubos de ensayo. En el cual, se inoculan varios tubos de ensayo que contengan medio de cultivo (líquido) y diluciones del antibiótico, con suspensiones conocidas del microorganismo. La determinación de la sensibilidad al fármaco, queda manifiesta por la incapacidad del microorganismo de crecer a una concentración de antibiótico determinada, dicho de otra manera, se detecta la concentración mínima inhibitoria (CMI) para el desarrollo del microorganismo. Esta última determinación, ha sido la más aceptada al ser trasladada a las placas donde la técnica y fundamento es el mismo, pero el ahorro es notable, sobre todo en tiempo (6, 33, 48).

2.10 TRATAMIENTO Y MEDIDAS PREVENTIVAS.

Al administrar un tratamiento a base de antibióticos, se corre un riesgo especialmente debido a que el medicamento suele seleccionar cepas resistentes al mismo tiempo.

En casos de individuos con procesos graves, niños de corta edad o adultos debilitados, es fundamental atender a la normalización del equilibrio hidroelectrolítico, ya que en la disentería bacilar este desequilibrio es máximo durante los primeros días de la enfermedad, en general, la rehidratación, puede llevarse a cabo por vía oral, si los vómitos lo impiden, o bien si se trata de niños pequeños o viejos con trastorno oncofático que hace borrosa la visión, se recurrirá a la vía endovenosa mientras sea necesario.

En cuanto al tratamiento con antibiótico, debe realizarse siempre, aún cuando el cuadro sea causado por *S. flexneri* ó *S. sonnei*, porque reduce la duración de la enfermedad y acorta notablemente el estado de portador sano, o asintomático así como sus complicaciones epidemiológicas.

En el tratamiento con antibióticos, el más usado generalmente es con ampicilina o el derivado de la misma amoxicilina, tetraciclinas, kanamicina, cloranfenicol, ácido nalidixico, ácido oxolinico y colistina. Preferentemente antes de su administración, es necesario establecer el patrón de sensibilidad (54,55)

Las medidas preventivas deben de tomarse en cuenta como medidas sanitarias, dirigidas a los focos de infección, concentrados propiamente a los manipuladores de alimentos, de agua y leche contaminada, los métodos inadecuados de eliminación de restos orgánicos. Como es el lavado escrupuloso de las manos después de acudir al excusado, sobre todo antes de ingerir alimentos y aumentar los cuidados cuando se viaje a zonas con endemia elevada, extremar la higiene personal como evitar las frutas y los vegetales mal lavados así como el agua local. (6,7)

Esto se resume a intervenciones particularmente efectivas y de bajo costo:

- 1.- Lactancia materna.
- 2.- Mejores prácticas para el destete
- 3.- Uso de suficiente agua limpia
- 4.- Lavado de manos
- 5.- Uso de letrinas
- 6.- Disposición adecuada de las heces de los niños.
- 7.- Inmunización contra el sarampión.

Para prevenir la incidencia, y reducir la duración de la gravedad de las enfermedades diarreicas, a través de la lactancia materna, debe considerarse que:

- a) La lactancia materna exclusiva o parcial ofrece protección a los niños hasta un año de edad.
- b) La protección es mayor durante los primeros tres meses de vida y disminuye después. (1,12)
- c) Durante el primer año de vida, la lactancia materna exclusiva confiere más protección que la lactancia materna parcial, la cual a su vez, proporciona mayor protección que la artificial. (53).
- d) Después del período de lactancia materna exclusiva, la lactancia materna prolongada durante el resto del primer año de vida y parte del segundo, aunque no protege totalmente contra las infecciones intestinales, logra que las diarreas sean menos frecuentes, de gravedad y duración menor.
- e) Además es probable que los niños alimentados al seno materno, tengan mejor estado nutricional, lo que indirectamente puede tener efecto, al disminuir la duración y gravedad de las diarreas. (54)

Los mecanismos de protección de la lactancia materna son:

f) Gracias a las propiedades inmunológicas y antimicrobianas de la leche materna.

f.1) El factor " bifido " que favorece el desarrollo de una flora intestinal compuesta principalmente por bacterias anaerobias Gram positivas de la especie Bifido bacterium, la cual puede inhibir la colonización de bacterias facultativas Gram negativas.

f.2) Los niños que reciben su alimentación en biberón, tienen un riesgo mayor de sufrir diarrea, ya sea por contaminación de la leche o biberón, además, los niños que reciben alimentos sólidos contaminados, también están con riesgo de presentar diarrea.

f.3) Los niños alimentados al pecho, pueden tener un estado nutricional mejor que otros niños, y consecuentemente un riesgo menor de morir por diarrea.

Las medidas preventivas deben de tomarse en cuenta como medidas sanitarias, dirigidas a los focos de infección, concentrados propiamente a los manipuladores de alimentos, de agua, y leche contaminada, los métodos inadecuados de eliminación de restos orgánicos. Como es el lavado escrupuloso de las manos después de acudir al excusado antes de ingerir alimentos y cuando se viaja a zonas con endemia elevada, extremar la higiene personal, así como evitar las frutas, los vegetales mal lavados y el agua local (41,52,54).

2.11 ALIMENTACIÓN DURANTE LA DIARREA AGUDA Y CRÓNICA.

La alimentación durante la diarrea aguda, son procesos que se autolimitan en más o menos 72 horas. Comúnmente después de un corto período de ayuno, la reintroducción gradual de su alimentación normal no agrava el curso de la diarrea.

En ocasiones, al reincorporar al niño a su régimen alimenticio normal, lo obliga a un nuevo período de ayuno, y por consecuencia, a la restricción de nutrientes que repercuten en su estado de nutrición. El cuadro diarreico agudo, experimenta desde su inicio, intolerancia a los alimentos. Es un hecho conocido en el que se alteran los procesos enzimáticos y la absorción de azúcares que es la más afectada. Siendo los azúcares la principal fuente de energía que recibe el niño en su alimentación, ya que se ha calculado que el 50% del total de los requerimientos calóricos en el niño están dados por los carbohidratos contenidos en la dieta (39,53).

La intolerancia de carbohidratos obligan al paciente a presentar disminución de la absorción intestinal de lactosa, y ello produce pérdida de proteínas y nitrógeno, así como la dilución y los ácidos biliares, disminuyendo la absorción de grasas.

Cuando el niño presenta un proceso gastrointestinal agudo se recomienda, no ofrecerle leche entera de vaca, ya que esto aumentaría la carga renal de solutos, obligando al riñón a excretar una mayor cantidad de agua (ver diagrama 1. A y B)

Actualmente existen fórmulas a base de soya y fórmulas con electrolitos y vitaminas en concentraciones adecuadas

La alimentación en la diarrea crónica en la mayoría de los casos, la etiología precisa, no se conocen y para ello dependen mucho de la experiencia del médico tratante, de facilitar un curso adecuado apoyado en exámenes de laboratorio que apoyen un diagnóstico adecuado (39,41).

La diarrea crónica tiene una limitación de la función absorbiva del intestino delgado, producida por un aplanamiento de las velocidades intestinales, y por lo tanto, una pérdida substancial de la superficie de absorción. Y cuando la diarrea ha causado desnutrición severa, la función pancreática se altera, se ven afectados severamente por lo que, su manejo debe ser intrahospitalario (50,51).

2.12 ANTIBIÓTICOS MÁS COMUNES UTILIZADOS EN EL TRATAMIENTO DE DIARREAS AGUDAS CAUSADAS POR BACTERIAS GRAM NEGATIVAS.

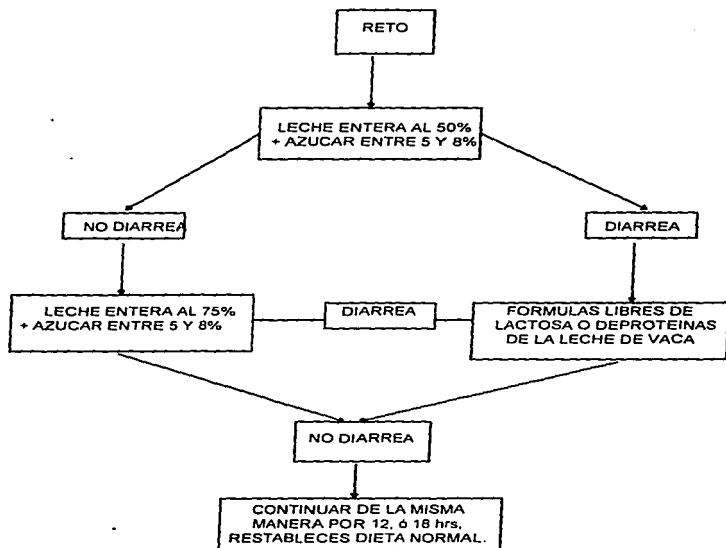
Los miembros de la familia Enterobacteriaceae a la que pertenece el género Shigella, son generalmente susceptibles a las sulfonamidas, cotrimoxazol, tetraciclinas, ampicilina, cefalosporinas, aminoglucósidos, cloranfanicol, ácido nalidixico y nitrofurantoína.

DIAGRAMA 1 A.

RECOMENDACIONES EN LA CANTIDAD DE LIQUIDOS Y NUTRIMENTOS PARA SU USO PARENTERAL (5)

EDAD	AGUA ml/kg	ELECTROLITOS		GLUCOSA g/kg	AMINOACIDOS g/kg	LÍPIDOS g/kg
		mEq/kg Na	K			
Neonato	80 -150	2 -5	2 -5	10 -15	2. 5	1 -3
Lactantes y preescolares	120 -200	2 -5	2 -5	12 -30	2. 5	1 -3

DIAGRAMA 1.B



Es recomendable, que la prueba de susceptibilidad antimicrobiana se realice respecto a diferentes antibióticos, a las *Shigellas* aisladas, si el caso lo requiere.

La terapia antibiótica administrada es una indicación para pruebas de susceptibilidad y modificación de la terapia, evitando de esta manera resistencias antimicrobianas. Los pacientes que han recibido previamente terapia antimicrobiana, son inmunosuprimidos han sufrido cirugía o instrumentación, o adquirido alguna infección dentro del hospital. La resistencia de las *Shigellas* a beta-lactámicos u otros antibióticos es frecuente, sin embargo se pueden obtener resultados satisfactorios con los aminoglucósidos (gentamicina, Kanamicina y amikacina).

La resistencia en los miembros de la familia Enterobacteriaceae al grupo beta-lactámicos es de doble naturaleza y refleja la interacción entre el efecto de barrera ejercido por la membrana externa que limita el acceso del antibiótico a la pared celular, y las beta-lactamasas que están presentes en el espacio periplásmico. Los beta-lactámicos no tienen relación estricta con la presencia de betalactamasas presentes en las bacterias Gram negativas, que son de origen cromosómico o plásmidico.

Los plásmidos pueden también conferir resistencia a las bacterias que pertenecen a la familia Enterobacteriaceae, contra los aminoglucósidos, tetraciclinas, sulfonamidas, cloramfenicol, ácido nalidixico, nitrofurantoina y trimetoprim. La rehidratación puede estar indicada y no se deben administrar antibióticos, excepto en los casos graves. La resistencia mediada por plásmidos es común y se deben realizar pruebas de susceptibilidad a los antibióticos en las *Shigellas* aisladas, si el caso requiere tratamiento antimicrobiano (27,56).

CÁPITULO III. PARTE EXPERIMENTAL.

3.1 MATERIAL

3.1.1 MATERIAL BIOLÓGICO.

Materia fecal de niños entre 0 y 5 años.

(Cuya consistencia o textura puede ser: líquida, diarrea, pastosa, ó dura).

3.1.2 MATERIAL DE LABORATORIO.

Axa bacteriológica.
Cajas de Petri.
Mechero Bursen.
Portaobjetos.
Gradilla.
Fascos viales de vidrio de 10 ml.
Espátula.
Matraz Erlenmeyer de 100 ml.
Pipetas Pasteurs.
Pipetas de 1 ml. (1/10)
Pipetas de 10 ml. (1/10)
Pipetas de 5 ml. (1/1)
Probeta graduada de 100 ml.
Probeta graduada de 500 ml
Vaso de pp de 250 ml.
Vaso de pp de 100 ml.
Tubos de ensayo de 12 x 75 mm.
Tubos de ensayo de 13 x 100 mm.
Tubos de ensayo de 16 x 150 mm. con tapón de rosca.

3.1.3 EQUIPO.

Balanza analítica CFI/DGN.
Balanza granataria OHAUS.
Colorímetro KLETT-SUMNERSON.
Espectrofotómetro BECKMAN Du-6 .

3.1.4 REACTIVOS QUÍMICOS.

Fosfato de sodio monobásico-Merck.
Fosfato de sodio dibásico-Merck.
Agua bidestilada-desionizada.
Solución Isotónica.
Iodo-Merck
Iodo de potasio-Merck
Reactivo de Kovacs: Alcohol amílico o isoamílico-Merck.
p- Dimetilaminobenzaldehído-Difco.
Ácido clorhídrico - Merck.

3.1.5 MEDIOS DE CULTIVO.

Agar Mueller-Hilton.
Medio L1U-Merck.
Caldo tripticase soya - Merck.
Mac Conkey - Bioxon.
Agar Xilosa-Lisina Desoxicolato (XLD)-Bioxon
Caldo Selenito - Merck
Caldo Tetrionato - Bioxon.
Caldo Rojo de Fenol-Merck.
Xilosa-sacarosa y ducitol-Merck.
Verde Brillante (VB) - Merck.
Agar Salmonella-Shigella (SS) - Merck.
Kligler Merck.
SIM- Bioxon.
Base de Descarboxilacion de Moeller (Lisina-ornitina-Arginina-Merck)

Caldo luria : Extracte de levadura- Difco.
 Bacto triptona - Difco.
 Cloruro de Sodio - Merck.

3.1.6 ANTIBIÓTICOS.

Ampicilina - Bioxon, Difco.
Sulfametoxazol Trimetoprim - BBL.
Amikacina - BBL.
Ceftriaxone - BBL.
Cloranfenicol - BBL.
Piperacilina - Difco.
Ciprofloxacina - Difco.
Trimetoprim Difco.
Cefotaxima - Difco.
Gentamicina - Sheramex.
Kanamicina - Difco.

3.2 METODOLOGIA.

3.2.1 AISLAMIENTO DE CEPAS DEL GÉNERO SHIGELLA

Las muestras de materia fecal estudiadas de pacientes hospitalizados y de consulta externa del I. N. P., se colectaron de dos maneras, una con el empleo de frascos estériles, en los cuales el paciente entregó la muestra al laboratorio. El hisopo que fue colocado en caldo Triplicase Soya, estéril (ver anexo), y descargados en medios selectivos: Mac-Conkey-Agar y X L D, los cuales, posteriormente fueron estridados, usando una asa bacteriológica, previamente esterilizada, con el fin de lograr el aislamiento de cepas puras incubadas durante 18 -24 hrs. a 37 °C.

El resto de material fue descargado en un frasco con medio de Selenio y el otro con Tetratonato adicionado con unas gotas de Iodo (2-3 gotas) e incubados a 37 °C durante 8-12 hrs. (ver anexo 9,18,25,27). En aquellos casos en los que la muestra de materia fecal fue remitida al laboratorio de bacteriología, en frascos estériles; posteriormente se realizaron las diluciones correspondientes y se sembraron en los medios selectivos y de enriquecimiento antes referidos.

De los medios de enriquecimiento, se realizó la siembra en: Agar SS, Agar Verde Brillante, Agar Mac Conkey y Agar XLD (ver anexo), con el fin de lograr el aislamiento de los microorganismos seleccionados por éste tipo de medios. El tiempo y la temperatura de incubación fue de 18-24 hrs. a 37 °C (ver Diagrama 1) (3,13,24)

3.2.2 PRUEBAS BIOQUÍMICAS.

El paso siguiente fue la selección de las colonias con morfología característica de enteropatógenas, que en el caso de el género Shigella, la búsqueda estuvo orientada a las colonias lactosa negativas, las cuales fueron seleccionadas para pruebas bioquímicas, tendientes a la detección del ácido y gas a partir de glucosa y lactosa, así como de H₂S, en medio de Kliger. La detección de Indol a partir de Triptofano y la movilidad, se efectuó en medio de SIM. La incubación se realizó a 37°C durante 18-24 hrs para la identificación de Indol. Posterior a la incubación del medio, se agregó el reactivo de Kovac (ver anexo), para su detección. La movilidad se observó en el mismo medio de SIM a través de la visualización directa. Posteriormente a la aplicación de estas pruebas presuntivas (ver DIAGRAMA II), se aplicaron las pruebas que incluyen la descarboxilación o no de la Arginina, Lisina y Ornitina, empleando para ello la base de descarboxilación de Möeller (ver anexo), así como el empleo de carbohidratos de tipo Xilosa, Sacarosa y Dulcitol en base rojo de fenol (18,13,27).

Las pruebas antes referidas, permitieron llegar al diagnóstico presuntivo de la especie de Shigella (ver DIAGRAMA III).

3.2.3 SEROLOGÍA

La confirmación de la especie, se realizó en base al uso de los antisueros polivalentes: anti-A (*S. dysenteriae*), anti-B (*S. flexneri*), anti-C (*S. boydii*), anti-D (*S. sonnei*), utilizando para ello la técnica de aglutinación en placa (ver DIAGRAMA IV).

El procedimiento siguiente fue: después de rehidratar el antisuero con 3 ml de solución salina isotónica estéril (ver anexo), el vial fue (rotado) agitado suavemente hasta la dilución completa del contenido del vial, el cual fue almacenado a -4°C hasta su uso.

Se emplearon laminillas de cristal previamente lavadas y desengrasadas, en las cuales se colocó 1 gota de solución salina, que se homogenizó con la cepa de *Shigella* a tipificar, en las cuales se colocó 1 gota de cada uno de los antisueros dirigidos a cada especie de *Shigella*. El control negativo no lleva antisuero.

Realizándose de la siguiente manera: Con una asa previamente flameada, se trasladó una asa del cultivo a estudiar, la cual fue emulsionada en una gota de solución salina, se adicionaron los antisueros correspondientes a las gotas de solución salina con la bacteria en suspensión. Se mezclaron ambas gotas, rotando la laminilla durante un minuto, hasta la iniciación de una aglutinación franca. Dicha aglutinación indicará la especie correspondiente de *Shigella* en cuestión, siendo una aglutinación clara con el suero específico.

3.2.4 CONSERVACIÓN DE CEPAS

Una vez aislada y tipificada *Shigella* se sembró en medio de conservación de LIU (ver anexo) durante 48 horas a 37°C y, posteriormente se refrigeró a 4°C (ver DIAGRAMA V).

DIAGRAMA I, Aislamiento y obtención de cepas del género *Shigella*.

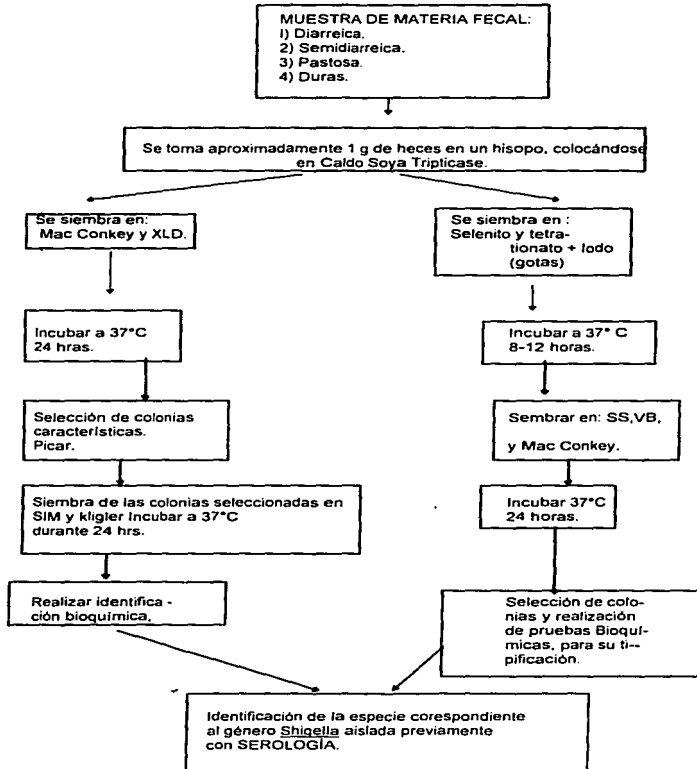


DIAGRAMA II. Pruebas bioquímicas presuntivas para el género Shigella. (3).

Prueba o Sustrato	Shigella
Glucosa	+
Lactosa	-
H ₂ S	-
Gas	+/-
Movilidad	-
Indol	-

DIAGRAMA III. Pruebas bioquímicas confirmativas para la especie Shigella (27)

PRUEBA O SISTRATO	ENTEROBACTERIAS			
	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. boydi</i>	<i>S. sonnei</i>
Arginina	+44%	+ 61%	+ 29%	-
Ornitina	-	-	+ 3%	+ 99%
Lisina	-	-	-	-
Xilosa	-	-	+	-
Dulcitol	+	-	+	-
Sacarosa	-	-	-	+

DIAGRAMA IV. SEROLOGIA.

Tipificación de las Shigellas aisladas.

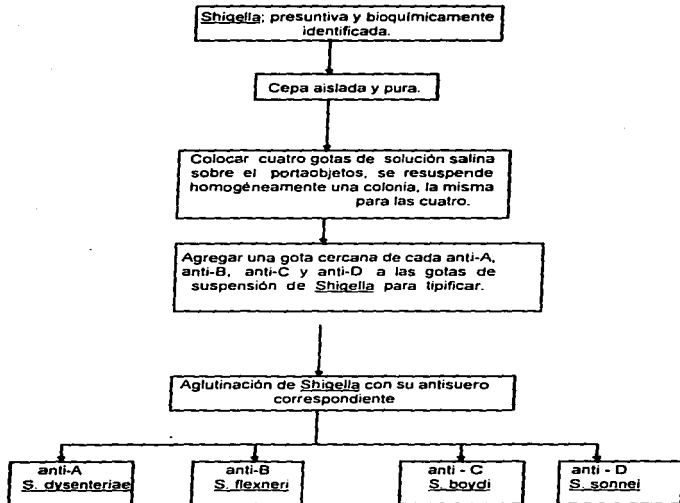
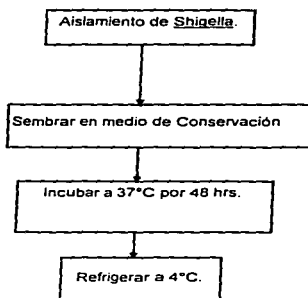


DIAGRAMA V. CONSERVACIÓN DE LA CEPA

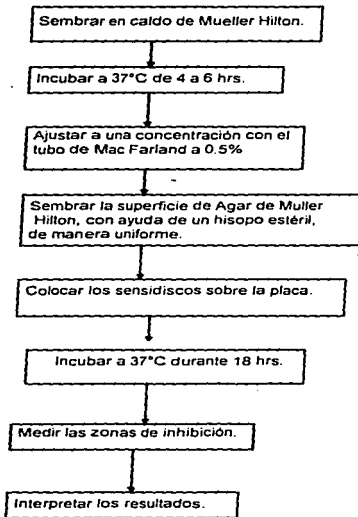


3.2.5 DETERMINACION DE LA SENSIBILIDAD A AGENTES ANTIMICROBIANOS.

Las cepas del género Shigella previamente aisladas y tipificadas, tanto bioquímica como serológica y conservadas para posible uso posterior, fueron sometidas a la determinación de sensibilidad o resistencia a distintos agentes antimicrobianos, por la técnica de KIRBY-BAUER. Se trabajó con una asada de la cepa pura, y se resuspendió con 3 ml de Mueller Hilton, incubándose de 4-6 hrs a 37°C. Posteriormente se procedió a ajustar la turbidez, a un tubo estándar de 0.5% de la serie de Mac Farland. Realizando la estandarización del inoculo, a sembrar las cepas problema, empleando un hisopo estéril, en Agar Mueller Hilton, sembrados en estrías cerradas. Las cajas fueron sometidas a secado a temperatura ambiente antes de aplicar los sensibiliscos conteniendo: Ampicilina (10 mcg), Amikacina (30 mcg), Cefotaxime (30 mcg), Ciprofloxacina (5 mcg), Ceftriaxone (30 mcg), Cloranfenicol (30 mcg), Gentamicina (10 mcg), Kanamicina (1000 mcg), Piperacilina (100 mcg) y Trimetoprim Sulfametoxazol (25 mcg), evitando colocar más de seis discos por caja. (27).

La incubación se efectuó a 37°C por 18 hrs promedio, al final de este tiempo, se observaron los resultados midiendo las zonas de inhibición con una regla o Bernier.

PROCEDIMIENTO.



Como cepas control se emplearon E. coli ATCC 25-922 y Pseudomona aeruginosa ATCC 27-852.

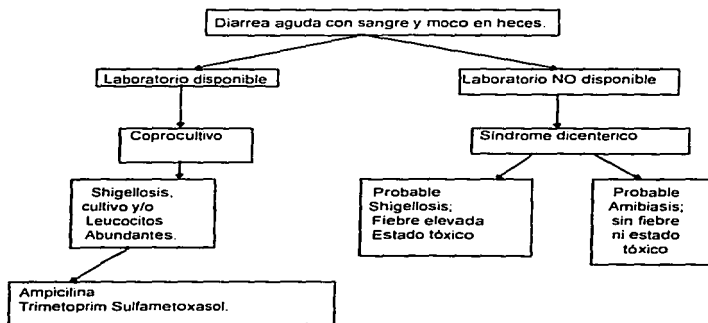
Dichos resultados se comparan con los valores que a continuación se anexan, para determinar la sensibilidad o resistencia de Shigella frente a los antibióticos de uso común. (Ver diagrama V).

DIAGRAMA V.

NOMBRE	SÍMBOLO	RESISTENCIA	SENSIBILIDAD
Sulfametoxazol Trimetoprim	SXT	10 mm	16 mm
Amikacina	AN	14	17
Ceftriaxone	CRO	13	21
Cloranfenicol	C	12	18
Ampicilina	AM	11	14
Piperacilina	PIP	14	18
Ciprofloxacina	CIP	15	21
Trimetoprim	TMP	10	16
Cefotaxime	CTX	14	23
Gentamicina	K	13	18

SECUENCIA ACEPTABLE DURANTE LA DIARREA

Uso clínico de antimicrobianos en gastroenteritis.



5 DIAS.

CAPITULO IV . RESULTADOS.

Se procesó un total de 3040 muestras de materia fecal durante los 4 periodos de las estaciones del año , considerando el número de muestras recibidas durante los 12 meses del año.

El mayor número de muestras fueron recibidas durante la primavera y verano, con 844 muestras y un mínimo de 160 en febrero (cuadro y gráfica I).

Con el empleo de pruebas bioquímicas se logró detectar en el mes de julio , un máximo de cepas del género Shigella (5.8%) y un mínimo (1.25%) en el mes de febrero (ver cuadro y gráfica II).

Se aislaron en niños menores de 1 año, 33 cepas y en menores del año; 47, lo que hizo un total de 80 cepas durante todo el año (cuadro III).

Independientemente de la edad del paciente, la máxima incidencia se presentó durante el verano en el mes de julio, fueron 17 casos y la menor frecuencia fue de dos aislamientos en el mes de febrero (ver gráfica III).

Es importante mencionar que durante el transcurso de los 12 meses, siempre estuvo presente la bacteria en cuestión (ver gráfica II y III) .

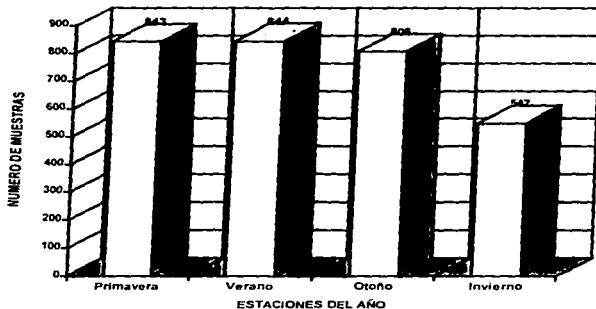
Mediante la identificación bioquímica y serológica se detecto a S. sonnei como la especie más frecuente, con una incidencia de 31 casos en todo el año, seguido de S. flexneri con 24 casos, y la menos frecuente S. dysenteriae con 10 casos (ver cuadro y gráfica III y IV).

Del total de 3040 muestras recibidas de materia fecal, en su mayoría sin diagnóstico clínico, se logro aislar a los miembros del género Shigella en 2.23% del total de muestras recibidas (ver Diagrama V).

Cuadro No. 1. Número de muestras recibidas por estaciones del año.

Estaciones del año	Mes	Total de muestras por estación
Primavera	Abril Mayo Junio Julio	843
Verano	Agosto Septiembre Octubre	844
Otoño	Noviembre Diciembre Enero	806
Invierno	Febrero Marzo	547
		3040 Muestras
Muestras pediátricas de niños menores de cinco años		

Gráfica 1. Número de muestras por estaciones del año de 1991.



Cuadro II Especie predominante de Shigella durante 1991.

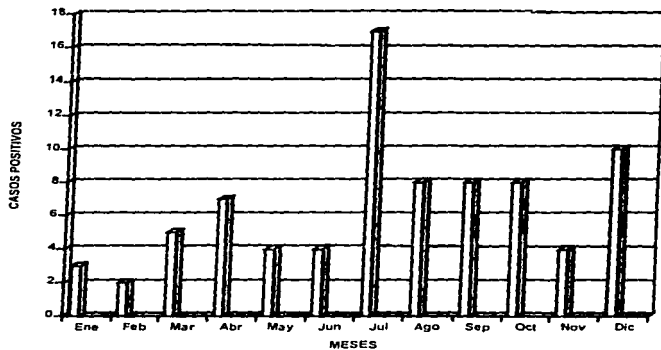
MES	CASOS	ESPECIE
Enero	3	2 <u>S. flexneri</u> 1 <u>S. boydi</u>
Febrero	2	1 <u>S. sonnei</u> 1 <u>S. flexneri</u>
Marzo	5	4 <u>S. flexneri</u> 1 <u>S. dysenteriae</u>
Abril	7	3 <u>S. boydi</u> 2 <u>S. dysenteriae</u> 1 <u>S. sonnei</u> 1 <u>S. flexneri</u>
Mayo	4	3 <u>S. sonnei</u> 1 <u>S. boydi</u>
Junio	4	3 <u>S. sonnei</u> 1 <u>S. dysenteriae</u>
Julio	17	8 <u>S. sonnei</u> 4 <u>S. flexneri</u> 4 <u>S. boydi</u> 1 <u>S. dysenteriae</u>
Agosto	8	4 <u>S. flexneri</u> 2 <u>S. sonnei</u> 1 <u>S. boydi</u> 1 <u>S. dysenteriae</u>
Septiembre	8	2 <u>S. sonnei</u> 2 <u>S. flexneri</u> 3 <u>S. dysenteriae</u> 1 <u>S. boydi</u>
Octubre	8	4 <u>S. sonnei</u> 3 <u>S. boydi</u> 1 <u>S. flexneri</u>
Noviembre	4	2 <u>S. flexneri</u> 2 <u>S. sonnei</u>
Diciembre	10	5 <u>S. sonnei</u> 3 <u>S. flexneri</u> 2 <u>S. boydi</u>
Total	80	

Cuadro III. Casos positivos de Shigella durante 1991.

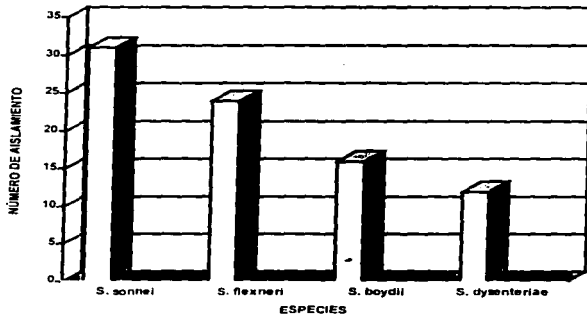
MES	MENORES DE UN AÑO	MAYORES DE UN AÑO	TOTAL
Enero	3	-	3
Febrero	2	-	2
Marzo	1	4	5
Abril	3	4	7
Mayo	1	3	4
Junio	1	3	4
Julio	4	13	17
Agosto	4	4	8
Septiembre	3	5	8
Octubre	2	6	8
Noviembre	3	1	4
Diciembre	6	4	10
Total	33	47	80

Siendo predominante en edades pediátricas mayores de un año, como era de esperarse.

Gráfica II. Casos positivos de Shigella por mes durante 1991.



Gráfica III. Especies predominantes de Shigella en 1991.



Especie preeminente de SHIGELLA en 1991. (Ver Diagrama III)

<u>Shigella sonnei</u>	31
<u>Shigella flexneri</u>	24
<u>Shigella boydii</u>	15
<u>Shigella dysenteriae</u>	10

80 casos durante el año 1991 en el I.N.P.

- Correspondiente al 2.63 % de las 3040 muestras recibidas.

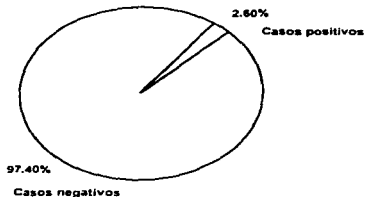


DIAGRAMA V. Frecuencia anual de Shigelosis

Los resultados obtenidos de la determinación de sensibilidad a agentes antimicrobianos, en el grupo perteneciente a los aminoglucósidos (Amikacina, Gentamicina y Kanamicina), los mejores resultados fueron obtenidos con el empleo de Gentamicina, ya que las cuatro especies obtenidas presentaron sensibilidad a más del 80%, entre las cuales la máxima se encontró en la especie S. flexneri (ver Tabla 1 y II).

Aún cuando más del 90% de las especies de S. boydi, S. flexneri y S. sonnei presentaron sensibilidad superior al 90%, en el caso de S. dysenteriae. El 65% de las cepas aisladas fueron sensibles Gentamicina.

En caso de Amikacina menos del 80% de las cepas de la especie S. sonnei y S. flexneri fueron sensibles, lo que indica un mal rendimiento.

En el grupo que incluyó antimicrobianos B-lactámicos, como son: las Cefalosporinas (Cefalotina, Ceftriaxona y Cefotaxima), aminopenicilinas (Ampicilina) y otra penicilina de amplio espectro (piperacilina) los mejores resultados fueron obtenidos para Cefotaxima, la menor efectividad se detectó con Ceftriaxona, ya que salvo S. flexneri, las demás especies presentaron sensibilidad arriba del 80%. La primera de ellas es la Cefalosporina de segunda generación y la segunda de tercera generación.

En el caso de la Cefalotina (cefalosporina de primera generación) está fue efectiva en más del 90% en cepas de S. sonnei y el resto de las especies fueron sensibles en menos del 80%.

Cabe mencionar que para inhibir el desarrollo de las cuatro especies estudiadas, Ciprofloxacina, fue efectivo en más del 90% de las cepas de: S. boydi, S. dysenteriae y S. sonnei, en tanto que solo fueron sensibles el 67% de las cepas de S. flexneri (ver Tabla 1). Shigella flexneri y S. boydi se mostraron sensibles en 100 % frente a kanamicina, S. dysenteriae con un 65 %, en tanto que S. sonnei presentó un 90 % a éste aminoglucósido y finalmente S. dysenteriae sólo presentó sensibilidad en un 100% para Cefotaxime.

TABLA 1. PORCENTAJE DE SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA DE SHIGELLA FRENTE A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS DURANTE 1991 SOBRE EL TOTAL DE MUESTRAS ANUALES.

ANTIBIÓTICOS		S. sonnei	S. flexneri	S. boydi	S. dysenteriae
		%	%	%	%
AMIKACINA (AK) 1	S=	71	74	85	80
	R=	29	26	15	20
GENTAMICINA (GM) 2	S=	89	93	88	80
	R=	11	7	12	20
KANAMICINA (KM) 3	S=	90	100	100	65
	R=	10	0	0	35
CEFALOTINA (CM) 4	S=	93	64	79	50
	R=	7	36	21	50
CEFTRIAZONE (CRO) 5	S=	82	74	80	86
	R=	18	26	20	14
CEFOTAXIME (CTX) 6	S=	82	82	93	100
	R=	18	18	7	0
AMPICILINA (AM) 7	S=	53	65	44	50
	R=	47	35	56	50
PIPERACILINA (PIP) 8	S=	60	35	50	65
	R=	40	65	50	35
TRIMETÓPRIN (TMP) 9	S=	83	79	69	75
	R=	17	21	31	25
CIPROFLOXACIN (CIP) 10	S=	91	67	100	100
	R=	9	33	0	0

1,2,3

4,5,6

7

8, 10

9

Aminoglucósidos

Cefalosporinas

Aminopenicilina

Penicilinas de Amplio Espectro

Otros

TABLA II. FRECUENCIA DE SENSIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS (PORCIENTO).

<i>S. sonnei</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. boydii</i>	<i>S. dysenteriae</i>
CM-93 CIP-91 Km.-90 Gm.-89 TMP-83	KM-100 GM-93 CTX-82	CIP-100 KM-100 CTX-93 GM-88 AK-85 CRO-80	CTX-100 CIP-100 CRO-86 AK-80 GM-80
CTX-82 CRO-82	TMP-79 CRO-74 AK-74	CM-79 TMP-69 PIP-50 AM-44	 TMP-75 KM-65 PIP-65 AM-50 CM-50
AK-71 PIP-60 AM-53	CIP-67 AM-65 CM-64 PIP-35		

CAPITULO V. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS.

La morbilidad y mortalidad por diarreas en lactantes y niños menores de cinco años, persiste en todo el mundo (51). México junto con la mayoría de los países Latinoamericanos, se encuentran con tasas altas de enfermedad y muerte, por este padecimiento.

Entre los agentes etiológicos involucrados, se encuentran; virus, bacterias, protozoarios, parásitos, etc (13). Aún cuando en la etiología bacteriana, se han desarrollado procedimientos que permiten detectar a bacterias de difícil desarrollo, así como a los microorganismos considerados como clásicos por su participación en las diarreas, como es el caso de los miembros del género Shigella. Estos no han perdido vigencia, y su importante participación es reportada en la Literatura mundial, sobre todo en países en vías de desarrollo (9,51). Entre estos se encuentra el agente causal de la Shigelosis, enfermedad aguda, infecciosa, ocasionada por microorganismos del género Shigella, que afectan principalmente el colon. Sus manifestaciones clínicas son variables, ya que van desde una diarrea acuosa benigna, acompañada de fiebre, hasta el síndrome clásico de disentería bacilar que puede ser fatal. Como agente causal de cuadros clínicos extraintestinales, se ha descrito su participación en osteomielitis, queratoconjuntivitis, vulvovaginitis así como bacteremia (2,9,14,24).

En orden decreciente de virulencia, las cuatro especies que constituyen este género son: S. dysenteriae, S. flexneri, S. sonnei, y S. boydi.

La Shigelosis es una enfermedad de la edad pediátrica, siendo el grupo más afectado, los niños menores de cinco años. Su trasmisión está íntimamente ligada con la higiene personal, de manera que mejorando esta y las medidas sanitarias, la incidencia del microorganismo se reduce.

En el presente estudio, realizado en el transcurso de 12 meses, en el Instituto Nacional de Pediatría, se procesaron 3040 muestras de materia fecal, de consistencia diarreica y algunas pastosas.

La máxima incidencia de muestras con este aspecto, coincidió en primavera-verano, disminuyendo sobre todo en los meses que corresponden al invierno. Logrando identificar 80 muestras con bacterias del género Shigella.

La identificación bioquímica y serológica, permitió observar S. sonnei como el microorganismo más frecuente, seguido por S. flexneri, S. boydi y finalmente S. dysenteriae, esta última solo con 10 aislamientos durante todo el año.

En el transcurso del tiempo se han presentado cambios importantes en la prevalencia de Shigella. Con respecto a S. dysenteriae, ésta fue la más frecuentemente aislada de todas las áreas del mundo, hasta la primera guerra mundial, que después comenzó a ser desplazada por varios tipos de S. flexneri.

A mitad de los años 60s y por razones desconocidas S. sonnei empezó a ser frecuente en las Naciones Industrializadas. Pocos años más tarde S. flexneri prevaleció en México, América Central, África y después en la India, Bangladesh y África Central. Actualmente es considerada como la causa de epidemias contraídas en el Sur de Asia y África Central. En tanto que S. flexneri es comúnmente aislada en países en vías de desarrollo, y S. boydi se encuentra comúnmente en la India y raramente en otras partes.

Tal vez porque sobrevive bien en ambientes húmedos y fríos, como el que se encuentra en algunos servicios higiénicos.

Actualmente S. sonnei predomina en los países desarrollados, aunque su frecuencia es variable. S. flexneri fue la más común en 1984 seguida de S. dysenteriae, en los países más desarrollados.

En base a lo antes expuesto se observa que no existe una diferencia significativa entre S. flexneri y S. sonnei (29-31%), en este trabajo.

En el estudio realizado durante 1991 con las muestras en las que se aisló Shigella, se observó que el 100% de las cepas de S. flexneri fueron sensibles frente a Kanamicina, y más del 75% a Gentamicina, Cefotaxime, y Trimetoprim, para S. boydi fueron 100% sensibles a Kanamicina y Ciprofloxacín, en un rango mayor de 75% frente a Amikacina, Gentamicina, Cefalotina, Ceftriazone y Cefotaxime. S. dysenteriae mostró sensibilidad en el 100% solo a Ciprofloxacín, y en un rango de 75% fue sensible a Amikacina, Gentamicina, Ceftriazone y Trimetoprim.

A diferencia de las demás, S. sonnei no fue sensible en 100% a los antimicrobianos probados durante el estudio; ya que mostró sensibilidad arriba del 75% frente a Gentamicina, Kanamicina, Cefalotina, Ceftriazone, Cefotaxime, Trimetoprim y Ciprofloxacín. Mostrando sólo un 50% en promedio la sensibilidad frente a Ampicilina, considerado como uno de los antibióticos de elección.

Los Estudios Nacionales (EFA) coinciden de manera muy similar, con la sensibilidad presentada a los antimicrobianos utilizados contra Shigella, mostrando su resistencia Estreptomocina, Cloranfenicol, Tetraciclina y Ampicilina, mientras que presentan una sensibilidad entre 50-100% al Ácido Nalidixico y la Gentamicina. Comparado a nivel mundial la resistencia mostrada por Shigella a Ampicilina, Tetraciclina y Cloranfenicol los hacen salir del cuadro básico de antibióticos para el tratamiento de diarrea causada por Shigella.

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES.

- 1.- Durante el desarrollo del trabajo, se observó que el mayor número de muestras positivas, fue encontrado en niños mayores de un año.
- 2.- El periodo durante el cual se presentó mayor incidencia de Shigelosis fue durante primavera-verano.
- 3.- Por las pruebas bioquímicas y serológicas realizadas se observó que S. sonnei es la especie más frecuente.
- 4.- Se observó elevada resistencia hacia Ampicilina. Por parte del género Shigella.
- 5.- Los mejores efectos de la Cefalotina, Ciprofloxacina, Kanamicina, Gentamicina, Trimetroprim y Cefalotina, Ceptriaxone fueron sobre S. sonnei.
- 6.- En el caso de S. flexneri los mejores resultados se obtuvieron con Kanamicina, Gentamicina y Cefotaxime.
- 7.- Ciprofloxacina, Kanamicina, Cefotaxime, Gentamicina, Amikacina y Ceftriazone, dieron buenos resultados para S. boydi.
- 8.- Ciprofloxacina, Ceftriaxona, Amikacina y Gentamicina presentaron arriba del 80% de sensibilidad para S. dysenteriae.
- 9.- Y la especie que presentó mayor sensibilidad a un mayor número de antimicrobianos fue S. sonnei, por su menor incidencia.

* El trabajo realizado durante el año 1991 permitió detectar la especie de mayor incidencia durante todo el año y la sensibilidad frente a antibióticos de uso común.

ANEXO.

CALDO DE SOYA TRIPTICASEINA.

Peptona de caseína	17 g.
Peptona de soya	3
Cloruro de sodio	5
Fosfato dipotasico	2.5
Dextrosa	2.5
Agua destilada	1000 ml
pH = 7.3 +/- 0.2	
Esterilizar a 121°C a 15 Lbs. durante 15 min.	

AGAR PARA SALMONELLA Y SHIGELLA.

Extracto de carne	5.0
Mezcla de peptonas	5.0
Lactosa	10.0
Mezcla de sales biliares	8.5
Citrato de sodio	8.5
Citrato férrico	1.0
Agar	13.5
Rojo Neutro	0.025
Verde Brillante	0.330 mg.
pH = 7.0 +/- 0.2	
Agua destilada	1000 ml
Hervir por un minuto. No esterilizar.	

AGAR VERDE BRILLANTE.

Extracto de carne	3.0
Mezcla de peptonas	10.0
Cloruro de sodio	5.0
Lactosa	10.0
Sacarosa	10.0
Rojo fenol	0.08
Agar	20.0
Verde Brillante	12.5 mg.
Agua destilada	1 L
pH = 6.9 +/- 0.2	
Esterilizar en autoclave a 121°C a 15 Lbs durante 15 min.	

AGAR DE MAC CONKEY

Peptona de gelatina	17.0
Mezcla de peptonas	3.0
Lactosa	10.0
Mezcla de sales biliares	1.5
Cloruro de sodio	5.0
Agar	13.5
Rojo neutro	0.03
Cristal violeta	0.001 mg.
Agua destilada	1000 ml.
pH = 7.1 +/- 0.2	
Esterilizar en autoclave a 121°C a 15 Lbs. durante 15 min.	

AGAR XLD (Xilosa-Lisina-Desoxicolato)

Xilosa	3.50
L-Lisina	5.0
Lactosa	7.50
Sacarosa	7.50
Cloruro de sodio	5.0
Extracto de levadura	3.0
Rojo de fenol	0.08
Agar	13.50
Desoxicolato de sodio	2.50
Tiosulfato de sodio	6.80
Citrato de hierro y amonio	0.80
Agua destilada	1 L
pH = 7.4 +/- 0.2	
Calentar aproximadamente a 90°C sin hervir No esterilizar.	

MEDIO SIM

Peptona de caseina	20.0
Peptona de carne	6.1
Sulfato de hierro y amonio	0.2
Tiosulfato de sodio	0.2
Agar	3.5
Agua destilada	1000 ml
pH = 7.3 +/- 0.2	
Esterilizar en autoclave a 121°C a 15 Lbs durante 15 min.	

REACTIVO DE KOVACS

Alcohol amilico o isoamilico	150 ml
p-dimetilaminobenzaldehido	10 gm
Acido clorhidrico concentrado	50 ml.

AGAR DE HIERRO DE KLIGLER

Mezcla de peptonas	20.0
Lactosa	10.0
Dextrosa	1.0
Cloruro de sodio	5.0
Citrato de amonio férrico	0.5
Tiosulfato de sodio	0.5
Agar	15.0
Rojo de fenol	0.025
Agua destilada	1000 ml.
pH = 7.4 +/- 0.2	
Esterilizar a 121°C a 15 Lbs durante 15 min.	

BASE DE DESCARBOXILACIÓN DE MOELLER

(caldo de ensayo-descarboxilación)

Peptona de carne	5.0 gm.
Extracto de levadura	3.0
D (+) - glucosa	1.0
Purpura de bromocresol	0.016
pH = 6.7 +/- 0.1	
Dihidrolasa (base) - Arginina, Lisina y Ornitina	1%
Agua destilada	1 L

CALDO ROJO DE FENOL CON (CARBOHIDRATOS)

(Xilosa, Sacarosa y Dulcitol)

Peptona de caseína	10.0
Cloruro de sodio	5.0
Carbohidratos	5.0
Rojo de fenol	0.018
Agua destilada	1 L
pH final 7.4 +/- 0.2	
Esterilizar de 116° a 118° no más de 12 Lbs durante 15 min.	

SOLUCION SALINA ISOTONICA.

Cloruro de sodio 8 g en 100 ml de agua destilada.

MEDIO DE CONSERVACION DE LIU.

Peptona de proteasa	10.0
Extracto de carne	10.0
Agar bacteriológico	9.0
Agua destilada	1 L
pH = 7.4	

AGAR DE MUELLER HILTON.

Infusión de carne de res	300.0
Peptona de caseína ácida	17.5
Almidón	1.5
Agar	17.0
Agua destilada	1000 ml.
pH = 7,4 +/- 0.2	
Esterilizar a 121°C a 15 Lbs por un tiempo no mayor de 15 min.	

CALDO LURIA.

Bacto-triptona	10.0 gm
Extracto de levadura	5.0
Cloruro de sodio	10.0
Agua destilada	1000 ml.
pH = 7 +/- 0.2	
Esterilizar en autoclave durante 20-25 min.	

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Arredondo García J. L.
DIARREA EN EL RECIEN NACIDO.
Boletín Médico del Hospital Infantil de México.
Vol. 14 (6): 360-366. junio de 1987.
- 2.- Ashkenazi Shai, Cleary R., Karen Pickering.
THE ASSOCIATION OF SHIGA TOXIN NOTHER CYTOTOXIN WITH NEUROLOGIC
MANIFESTATIONS DE SHIGELLOSIS
The Journal Infections Diseases.
Vol. 161: 965 1990.
- 3.- Balows A. Hauster Jr, W. J. Hermann K. L., and Sha Dorny H. W.
MANUAL OF MICROBIOLOGY 15a De.
American Society for Microbiology.
Washintong D.C. Cap. 36. 360-383. 1991.
- 4.- Bronfman Mario, Castro Roberto.
PRESCRIPCIÓN MÉDICA Y ADHERENCIA AL TRATAMIENTO EN DIARREA INFECCIOSA
AGUA : IMPACTO DIRECTO A UNA INTERVENCIÓN EDUCATIVA.
Salud Pública, México 1991. vol. 33 568-575.
- 5.- Carlin Alis, Rahaman Manbur, Sack A. David.
USE MONOCLONAL ANTIBODIES TO TYPE SHIGELLA FLEXNERI IN BANGLADESH.
Journal Clinical Microbiology. Vol. 27. 1163-1166. 1989
- 6.- Caballo J. D., Berción R, Baudet J. M., Samson T.
ANTIBIOTIC SENSITIVITY OF 140 STRAINS OF SHIGELLA ISOLATE IN DIBOUTI
Bull. Soc. Pathol. Exol. Vol. 86 (1): 35 -40. 1993.
- 7.- Conde González Carlos.
SHIGELLOSIS PHATOGENIA E INMUNIDAD.
Infectología. Vol. 12: 1591-1595. 1983.
- 8.- Cravioto Alejandro, Reyes R.E. Trujillo F.
RISK OF DIARRRHEA DURING THE FIRST YEAR OF LIFE ASSOCIATED WITH INITIAL AND
SUBSEQUENT COLONIZATION BY ESPECIFIC ENTEROPATHOGENS.
American Journals of Epidemiology Vol. 131 (5): 886-904. 1990.
- 9.- Cril Rozman, Ferreras Valenti, García S.M.
MEDICINA INTERNA 10a Ed. (2) Cap. 14: 779-783. 1985
- 10.- C. S. Panda, L. W. Riley, S. N. Cumari.
COMPARISON OF ALKALINE PHOSPHATASA ALKALINE CONJUGATED
OLIGONUCLEOTIDE DNA PROBE WHIT THE SERENY TEST FOR IDENTIFICATION OF
SHIGELLA STRAINS.
Journal of Clinical Microbiology. Vol. 28. (9): 2122-2124. 1990.

**ESTA TEXA NO DEBE
VALER DE LA MINUTERIA**

- 11 - Derby Shire Paul, Baldwin Tom, Stevenson Pauline.
EXPRESSION IN E. COLI K-12 OF 76000 DALTON REGULATED OUTER MEMBRANE
PROTEIN OF SHIGELLA FLEXNERI CONFERS SENSIBILITY TO CLOACI D.F. 13 IN THE
ABSENSE OF SHIGELLA "O" ANTIGEN.
Infection and Immunity. Vol. 57 (9) : 2794-2798. 1989.
- 12 - Duta P, Bhattachya, S K
SHIGELLOSIS IN CHILDREN PROSPECTIVE HOSPITAL BASE STUDY.
Indian PEDIATRICS Vol. 29 : 1105-1129. 1992.
- 13 - De Wit, M.D. Thomas G.
ACUTE DIARRHEA IN CHILDREN.
Pediatrics in Review. Vol. 11 (1): 6-13. 1992.
- 14 - Echeverria Peter, Seriwatana Jitrimal.
A COMPARATIVE STUDY OF ENTEROTOXIGENIC E. COLI, SHIGELLA, AEROMONAS AND
VIBRIO AS ETIOLOGICS OF DIARRHEAS IN NORTHEASTAIN TAILAND.
The América Society of Tropical Medicine and Hygiene.
Vol. 34 (34) : 547-554. 1985.
- 15 - Filloy L.
CONCEPTOS ACTUALES SOBRE BACTERIAS ENTEROPATOGENAS.
Hospital Infantil de México Infectología. Vol. 12 597-599 1986
- 16 - Gerald T. Keusch M. D. and Michel L. Benhish.
SHIGELLOSIS RESENT PROGRES* PERSISTING PROBLEMS AND RESEARCH ISSUES.
Pediatrics Infect Dis J. Vol. 8 : 713-719. 1989.
- 17 - González Gutiérrez y Olarde J.
PROBLEMAS DE LAS DIARRREAS INFECCIOSAS.
Boletín Mensual. Sector Salud de México, Vol. 1 (5) : 61-71. 1986
- 18 - Gracey Michel
BACTERIAL CAUSE OF ACUTE AND CHRONIC DIARRHEA INFATS AND CHILDREN.
New York. Cap. 76 Y982.
- 19 - Griscafre H y Col.
NORMAS PARA EL TRATAMIENTO DE DIARREA INFECCIOSA AGUDA.
Boletín Mensual. Sector Salud de México, Vol. 1 (12) Dic. 1986.
- 20 - Gutierrez Gonzalo, Myz. Ma. del Carmen, Héctor Guiscafré, Georgina Gómez Onofre
Muñoz, Peniche Alfredo
ENCUESTA SOBRE EL USO DE ANTIMICROBIANOS Y DE HIDRATACIÓN ORAL EN LA
DIARRREA INFECCIOSA AGUDA EN EL USO RURAL DE MÉXICO
COPLANAR. 66-71. 1990.
- 21 - Harnett N
HIGH LEVEL RESISTENCE TO TRIMETHOPRIM, COTRIMOXAZOLE AND OTHER
ANTIMICROBIAL AGENTS AMOG CLINICAL ISOLATES OF SHIGELLA IN ONTARIO
CANADA AN UP DATE.
Epidemiol. Infect. 109. 463-472. 1992.

- 22.- Heikilo Elina, Sitonen Anja, Jankola Matti.
INCREASE OF TIMETHOPRIM RESISTANCE AMONG SHIGELLA SPECIES 1975-88
ANALYSIS OF RESISTANCE MECHANISMS.
The Journal of Infections Diseases. 161: 1242-48. 1990
- 23.- Henry D. Isenberg.
PATHGENICITY AND VIRULENCE: ANOTHER NIEW.
Clinical Microbiology Reviews. Jan 40-53: 1988.
- 24.- Joklik W.K., Willett. H.P., Amos B. and Wilfent C.M.
(ed) Zinsser Microbiology. 20a. Appleton and Lange.
California. 258-265 and 695-698. 1992.
- 25.- Krieg N R., and Holt J. G (eds).
BERGEYS MANUAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY.
Williams and Wilkins Baltimore. Vol. 1: 423-427. 1984.
- 26.- Kunin C.M.
RESISTANCE TO ANTIMICROBIAL DRUGS-A WORLD-WIDE CALAMITY.
Ann. Intern. Med. 118 (7) : 557-561. 1993.
- 27.- Lennete Edwin H
MANUAL DE MICROBIOLOGIA CLINICA. Edit. Panamericana 1990.
American Society for Microbiology. Cap. 16: 214-224, Cap. 18: 256-267.
- 28.- Ling J.M., Shaw P.C., Kamm K.M., Cheng A.F. and French G. L.
MOLECULAR STUDIES OF PLASMID OF MULTIPLI-RESISTANT SHIGELLA SP.
In Hong Kong. Epidemiol Infect. 110 (3): 437-446. 1993.
- 29.- M.F. Peter, M. Chandier and Fayet.
TRANSPORTATION IN SHIGELLA DYSENTERIAE ISOLATION AND ANALYSIS OF IS (11, A)
NEW MEMBER OF THE IS GROUP OF INSERTION SEQUENCES.
Journal of Bacteriology. Vol. 172 (7): 4090-4094. Jul. 1990.
- 30.- Maki-Jkola Outi.
COMBINED USE RELEASE PROTEINS AND LIPOPOLY-SACCHARIDE IN ENZYMELIKED
IMMUNOSORBENT A ASSAY FOR SEROLOGIC. OF SHIGELLA INFECTIONS.
Departaments of Medical Microbiology.
The Journal of Infections Diseases. Vol. 19: 409-411. 1991.
- 31.- Martínez García Ma. del Carmen, Muñoz Onofre, Peniche A.
EPIDEMIOLOGIA DE LAS DIARRREAS AGUDAS EN UN SISTEMA RURAL DE ATENCIÓN
MEDICA (IMSS-COPLANAR).
Archivo de Investigación Médica México. Vol 20 (1): 69-78. 1989.
- 32.- Mikhail A. Isis, Hyams C. Kenneth, col.
MICROBIOLOGIC AND CLINICAL STUDY OF ACUTE DIARRHEA IN CHILDREN IN CENTER
EGYPT. Scand. J. Infect., Dis. Vol. 21: 59-65. 1989.

33.- U. Mile. J.
DEPARTAMENTOS OF MEDICAL MICROBIOLOGY.
The Journal of Infections Diseases. Vol. 19: 409-311. 1991.

34.- M. Montes S.
SHIGELLOSIS IN CHILDREN DAY CARE CENTERS LEXIGLON-FAYETTE COUNTY,
KENTUCKY 1991. 267 (7). 860—862. JAMA. August. 19, 1992.

35. Mota Hernández Felipe y Col.
CAUSA DE HOSPITALIZACION EN NIÑOS CON DIARREA EN MÉXICO.
Boletín Med. Hospital Inf. de México, Vol. 49 (11): 752-755. 1988.

36.- Mota Hernández Felipe y Col.
PROGRAMA NACIONAL DE REHIDRATACIÓN ORAL EN DIARREAS.
Boletín Medico Sector Salud de México. Vol.3 (10): 104-197.1988.

37.- Mota Hernández Felipe y Col.
LA HIDRATACIÓN ORAL EN NIÑOS CON DIARREA.
Salud Publica de México. Suplemento. Vol. 26(1). 9-30. 1984.

38.- Mota Hdz. Felipe y Pérez Ricardez Ma. Luisa.
EL CONTROL DE LAS ENFERMEDADES DIARREICAS EN MÉXICO.
Bol. Med. Hosp. Inf. de México, Vol. 46 (5): 360-367. 1989.

39.- Mota Hdz. F.
REHIDRATACION ORAL EN CASOS DE COLERA Y OTRAS DIARREAS.
Bol. Med. Hosp. Inf. de México. Vol. 49: 809-812. 1992.

40.- Motarjemi Y. et al.
BOLETIN ANUAL DE LA OFICINA SANITARIA PANAMERICANA.
Vol. 115. (5): 449-450. 1993.

41.- Onofre Muñoz M. Coello Ramírez, Olarte J. y Col.
GASTROENTERITIS INFECCIOSA AGUDA ETIOLOGICA Y CORRELACION CON LAS
MANIFESTACIONES CLINICAS Y EL MOCO FECAL.
Archivo de investigación médica. México 10 (3): 135-146

42.- Payne W. V.
IRON AND VIRULENCE IN SHIGELLA.
Microbiology Review, Molecular Microbiology. Vol. 3 (9) 1301 1306 June 1990

43.- Riley W. Castro Muñoz, Zarate R. D., Siblei B. y Col.
FACTORES DE RIESGO DE DIARREA INFANTIL AGUDA EN CHIAPAS MEXICO.
ESTRATEGIA DE INTERVENCION.
Boletín Oficial Sanitario Panamericano. Vol. 108 (2): 93-99. Feb. 1990.

44.- Rocoroni H. A. J. y Col.
COSTO Y EFICASIA DEI COPRO CULTIVO EN EL DIAGNOSTICO DE LA DIARREA AGUDA.
Oficina Sanitaria Panamericana. Vol. 107 (5) 381-386. Nov. 1989.

- 45.-Ruiz Mateus Cuauhtémoc.
DIARREAS, INFORMACION EPIDEMIOLOGICA.
Informacion estadística sobre enfermedades transmisibles. Distribución en la República Mexicana.
Boletín mensual sector salud. México. Vol. 3 (1): 1-6. 1988.
- 46.- Sepulveda J, Willett W, and Muñoz A.
MALNUTRICION Y DIARRREA.
American Journal of Epidemiology. Vol. 127: 365-376. 1988.
- 47.- Strokbine Nancy A. and Parsonnet Julie.
MOLECULAR EPIDEMIOLOGY TESTIFYNG IN ANALISIS OF EPIDEMIC SHIGELLA DYSENTERIAE TIPO 1 STRAINS.
The Journal of Infections Diseases. Vol. 163: 406-409. 1991.
- 48.- Tauxe V, Robert, Cavanagh R. T. and Michell Cohen L.
INTERESPECIES GENE TRANSFER IN VIVO PRODUCING ON THREEK OF MULTIPLY RESITANT SHIGELLOSIS
The Journal of Infection on Diseasers. Vol 160 (6): 1067-1070. 1989.
- 49.- Tood-Sanford
DIAGNOSTICO CLINICO POR EL LABORATORIO.
6a. Edición. Edit. Salvat Ediciones. S.A. cap 18: 997-99. 1988.
- 50.- Torregrosa Ferraeís Luis y Col.
ENFERMEDADES DIARREICAS EN EL NIÑO.
9a. Edición Medica del Hospital de México, 1988.
- 51.- Torregrosa Ferraeís Luis y Col.
ENFERMEDADES DIARREICAS EN EL NIÑO.
10a. Edición Medica del Hospital de México. 1996.
- 52.- Twum-Dnsok, Merwah S., Ahiberg A. y Col.
SHIGELLA OSTEOMYELITIS IN FIT YOUNG MAN.
Trop. Geogr. Med. Vol. 45 (2): 88-89. 1993.
- 53.- Vázquez- Garbay Edgar M.
RECOMENDACIONES NUTRICIONALES EN EL RECIÉN NACIDO.
Bol Med. Hospital Infantil de México, Cap. 49 (12): 861-876. 1992.
- 54.- Welti Chávez Carlos, Dr. Felipe Mota Hernández.
ENCESTA DEL MANEJO EFECTIVO DE LOS CASOS DE DIARREAS. (EMECAD).
Bol. Mensual. Cap. 11: 165-175. 1991.
- 55.-Whorton Melinda, Spiegel Richard A.
A LARGE OUTBREAK OF ANTIBIOTIC-SHIGELLOSIS AT A MASS GATHERING.
Cap.162: 1324-1328. 1990.
- 56.- Williams Rosmund y otros.
MICROBIOLOGIA MEDICA.
MosbyDoyma Libros 25. 10. 1995.