

Epidemiología clínica y molecular de las infecciones por *Shigella spp* en niños de la Región Metropolitana durante el verano 2004-2005

Christopher Hamilton-West M^{1a}, Valeria Prado J¹, Juan Carlos Hormazábal O², Rosanna Lagos Z³, Dona Benadof F⁴, Carmen Mendoza N⁵, Andrea Elgueta N⁶, Cecilia Tapia P⁷, Marcela Cifuentes D⁸, Isabel Alvarez A⁹, Mariluz Hernández E¹.

Shigella spp infections in children living in the Metropolitan Region, Chile, during summer of 2004-2005

Background: *Shigella spp* is a frequent cause of diarrhea in children. Antimicrobials decrease the duration of diarrhea and pathogen excretion. However, the increasing resistance limits their therapeutic value. **Aim:** To study *Shigella* serotype distribution in the Metropolitan Region in Chile, and its relationship with severity of disease, antimicrobial resistance pattern and clonality. **Material and methods:** During summer 2004-2005, stool samples from children with diarrhea were collected in Cary Blair transport medium and cultured. *Shigella* isolates were serotyped using monoclonal and polyclonal commercial antibodies. In vitro activity of ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid, chloramphenicol, cotrimoxazol, nalidixic acid, ciprofloxacin, ceftriaxone and azithromycin was determined by minimal inhibitory concentration (MIC). Clonality was studied by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) using *Xba*I as restriction enzyme. **Results:** One hundred thirty nine *Shigella* strains were isolated (77 *S sonnei* and 62 *S flexneri*). *S sonnei* and *S flexneri* 2a serotypes were responsible for 95% of episodes. Children aged 2-4 years, showed a greater incidence of *Shigella* infections and 77% of episodes were treated on an ambulatory basis. High resistance levels were observed for ampicillin, cotrimoxazole, amoxicillin-clavulanic acid and chloramphenicol (67%, 60%, 56% and 45%, respectively). We found 11 resistance patterns and 61,2% of strains were multiresistant. There were multiple clones without a strict relationship with resistance patterns. **Conclusions:** *Shigella* infections in Metropolitan Region in Chile are associated to a restricted number of serotypes, representing a clonal expansion associated to different antimicrobial resistant patterns (Rev Méd Chile 2007; 135: 1388-96).

(Key words: Anti-bacterial agents; Diarrhea, infantile; *Shigella*)

Recibido el 8 de enero, 2007. Aceptado el 15 de mayo, 2007.

¹Programa de Microbiología, Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile. ²Instituto de Salud Pública, (ISP). ³Centro para Vacunas en Desarrollo Chile, (CVD-Chile). Hospitales ⁴Roberto del Río, ⁵Exequiel González Cortés, ⁶Félix Bulnes, ⁷San Juan de Dios, ⁸San Borja Arriarán, ⁹Luis Calvo Mackenna.

^aMédico Veterinario, Tesista del Programa de Magister en Ciencias Agropecuarias, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Chile.

Correspondencia a: Dra. Valeria Prado J. Av. Independencia 1027, Santiago. Fax: 56-2-735 5855. E mail: vprado@med.uchile.cl

La shigellosis es reconocida por la Organización Mundial de la Salud como un problema importante de salud pública^{1,2}. Anualmente ocurren 164,7 millones de episodios de diarrea y 600 mil muertes asociados a *Shigella*. Más de 90% de ellos ocurre en países en desarrollo, afectando principalmente a niños menores de 5 años³⁻⁵. En Chile, *Shigella* se asocia a 4%-12% de los casos de diarrea aguda y a 22%-30% de episodios de diarrea disintérica en menores de 5 años^{6,7}.

Se han definido 41 tipos antigénicos de *Shigella* distribuidos en 4 especies (11 en *S dysenteriae*, 6 en *S flexneri*, 18 en *S boydii* y 1 en *S sonnei*). La inmunidad es serotipo específica^{8,9}.

La shigellosis es endémica en países en desarrollo, con brotes estacionales en primavera-verano^{10,11}. La transmisión es facilitada por la baja dosis infectante (100 a 200 bacterias), por condiciones ambientales y deficiente higiene personal^{12,13}.

Las infecciones por *Shigella* en adultos son menos frecuentes, asociándose a estrecho contacto con niños infectados. Los homosexuales, portadores de VIH y las personas que viajan desde países industrializados a zonas menos desarrolladas tienen alto riesgo de desarrollar shigellosis^{14,15}.

La infección puede ser severa en niños, manifestándose como diarrea secretora o disintérica, con fiebre, tenesmo y compromiso neurológico. Sin tratamiento antibiótico efectivo, algunos pacientes desarrollan septicemia, neumonía o síndrome hemolítico urémico^{8,16-18}. El tratamiento antimicrobiano adecuado, reduce el tiempo de excreción del patógeno, la duración de los síntomas y la incidencia de complicaciones^{1,19}.

En los últimos años, el tratamiento de la shigellosis se ha visto dificultado por la emergencia de resistencia antimicrobiana^{17,19-22}. Estudios previos han mostrado que cepas de *Shigella* exhibían niveles de resistencia de 87%, 76%, 73% y 52% para ampicilina, cotrimoxazol, tetraciclina y cloranfenicol, respectivamente. Estas cifras coinciden con estudios internacionales, señalando que el problema es mundial^{17,19-22}.

Investigaciones anteriores en niños chilenos, mostraron que un número reducido de serotipos (*S sonnei*, *S flexneri* 2a, *S flexneri* 2b, y *S flexneri* 6) son responsables de 90% de los episodios de shigellosis, y que se mantienen relativamente estables en el tiempo^{10,23}.

Además de la serotipificación antigénica, la subtipificación molecular de cepas de *Shigella* es un elemento valioso para caracterizar brotes epidémicos, determinar fuentes de infección y reconocer cepas particularmente virulentas²⁴. El estudio del ácido desoxirribonucleico (ADN) cromosómico, mediante electroforesis en campo pulsátil (PFGE), es la técnica de tipificación molecular de referencia y permite analizar relaciones genéticas entre distintas cepas bacterianas^{2,25,26}. Con el propósito de ampliar la información disponible sobre frecuencia y distribución de serotipos de *Shigella* circulantes en nuestro medio y actualizar la información sobre los patrones de resistencia antibiótica, durante el verano 2004-2005, desarrollamos un trabajo colaborativo con una red de laboratorios de hospitales del sector público. Otro objetivo fue analizar la similitud genética de las cepas de *Shigella* para determinar si la resistencia antimicrobiana es un fenómeno clonal o general.

MATERIAL Y MÉTODOS

Origen de las cepas. Se analizaron cepas de *Shigella* aisladas de pacientes menores de 10 años, con diarrea aguda, atendidos en los hospitales Roberto del Río, Exequiel González Cortés, Félix Bulnes, Luis Calvo Mackenna, San Borja Arriarán y San Juan de Dios, entre el 1 de noviembre de 2004 y el 30 de abril de 2005. Además se incluyeron cepas de pacientes ambulatorios atendidos en el Consultorio de Colina durante el mismo período. Se definió diarrea aguda como la evacuación intestinal de 3 o más deposiciones de consistencia alterada (líquidas, con mucus, sangre o pus) en un lapso de 24 h.

Obtención y procesamiento de las muestras de deposición. Muestras de deposición fresca fueron obtenidas directamente del pañal o por hisopado rectal, depositadas en medio de transporte Cary Blair, y trasladadas dentro de 2-4 h al laboratorio del hospital respectivo, o dentro de 8 h al Laboratorio de Enteropatógenos de la Facultad de Medicina, Universidad de Chile, en el caso de muestras del Consultorio Colina. Siguiendo los procedimientos microbiológicos estándar²⁷, las muestras fueron sembradas en agar MacConkey, SS o XLD, e incubadas a 37°C en aerobiosis por

18-24 h. De cada placa se seleccionaron 3 colonias lactosa negativas con morfología sospechosa de *Shigella*. La identificación de especie se realizó mediante pruebas bioquímicas y serológicas (reacción de aglutinación en lámina), utilizando antiseros comerciales específicos (Probac, Sao Paulo, Brasil). En los pacientes en que se aisló *Shigella spp* se completó un formulario de datos clínico-demográficos.

Serotipificación, estudio de susceptibilidad a antimicrobianos y caracterización molecular de las cepas de *Shigella*. La serotipificación de las cepas detectadas en los hospitales se realizó en el Centro de Referencia de Enteropatógenos del Instituto de Salud Pública (ISP). Las cepas provenientes del Consultorio de Colina fueron tipificadas en el Laboratorio de Enteropatógenos de la Facultad de Medicina. Los serotipos de *S flexneri* fueron definidos utilizando un panel de anticuerpos policlonales, Denka Seiken y anticuerpos monoclonales específicos (Reagensia AB, Estocolmo, Suecia) respectivamente.

El estudio de susceptibilidad a antimicrobianos (CIM) se realizó mediante técnica de dilución en agar, frente a ampicilina, amoxi/clavulánico, clo-ranfenicol, cotrimoxazol, ácido nalidíxico, cipro-floxacin, ceftriaxona y azitromicina, siguiendo las recomendaciones del CLSI (ex NCCLS)²⁸. Para azitromicina, arbitrariamente se fijó como valor de corte 8 ug/ml. Como controles se utilizaron las cepas *Escherichia coli* ATCC25922 y para azitromicina, *Staphylococcus aureus* ATCC25923. Con los resultados obtenidos se establecieron los patrones de resistencia de las cepas. Se definió como multiresistente, una cepa de *Shigella* con resistencia a 3 o más antimicrobianos. Cepas con sensibilidad intermedia fueron consideradas resistentes.

Para el estudio molecular se seleccionaron 15 cepas de *Shigella sonnei* y 11 de *Shigella flexneri*. Se utilizó la técnica de electroforesis en campo pulsátil (PFGE), y se realizó digestión del ADN con la enzima *XbaI* a 37°C^{30,31}. Se utilizó un equipo CHEF DRIII System (BIORAD). El gel fue teñido con bromuro de etidio, la imagen fue capturada con el equipo GEL DOC 200 (BIORAD). Como marcador de peso molecular y para estabilizar la imagen se usó la cepa estándar *Salmonella braenderup* 1248. La presencia de clones se estableció aplicando el criterio UPGMA y el software *Molecular Analyst* (Fingerprinting Plus,

version 1.12). Las cepas con similitud genética de 90% o más, fueron consideradas un mismo clon. Como cepas control se incluyeron las cepas ATCC12022B (*S flexneri* 2b) y CDC1120-66 (*S sonnei*.)

Se obtuvo aprobación ejecutiva del Comité de Ética de la investigación en seres humanos de la Facultad de Medicina para el estudio de cepas codificadas y anónimas.

Estadística. Se analizó la distribución de serotipos de *Shigella* según edad de los pacientes y nivel de atención requerido, mediante la prueba de Chi cuadrado para hipótesis de independencia²⁹. El análisis de similitud genética de las 26 cepas seleccionadas se realizó considerando proporcionalmente las especies de *Shigella*.

RESULTADOS

Distribución de especies y serotipos. El estudio abarcó 139 cepas, incluyendo 77 *Shigella sonnei* y 62 *Shigella flexneri*. La distribución de los serotipos de *S flexneri* fue la siguiente: 55 cepas serotipo 2a, 3 cepas 1b, 2 cepas 3a, una cepa 1a y una cepa 4a. Los serotipos *S sonnei* y *S flexneri* 2a representaron el 95% de los aislamientos. Se observó diferencias en la distribución etárea según la especie. De los aislamientos de *S sonnei*, 15,6% provenía de pacientes menores de 2 años, en tanto que del total de las *S flexneri*, 33,9% fueron recuperadas en ese tramo etario ($p < 0,05$) Figura 1.

La frecuencia de diarrea con sangre también fue diferente según la especie. Este antecedente estuvo presente en 28,6% de los casos con aislamiento de *S sonnei* y en 43,5% de aquellos con *S flexneri* ($p < 0,05$).

La proporción de pacientes que necesitó hospitalización fue significativamente mayor para *S flexneri* (25/62, 40,3%) que para *S sonnei* (18/72, 23,4%); ($p < 0,05$). No se observó asociación estadística entre característica de la diarrea (acuosa o disintérica) y el nivel de atención requerido ($p > 0,05$).

Susceptibilidad in vitro. Las 139 cepas estudiadas presentaron elevados niveles de resistencia frente a ampicilina (66,9%), cotrimoxazol (59,7%),

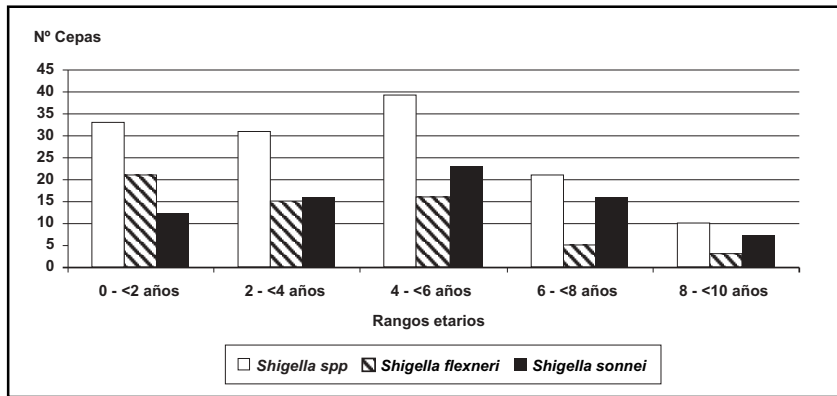


Figura 1. Distribución de cepas de *S sonnei* y *S flexneri* aisladas en la Región Metropolitana durante el verano 2004-2005, según edad de los pacientes.

amoxicilina-ácido clavulánico (56,1%) y cloranfenicol (45,3%). No se observaron cepas resistentes a ácido nalidíxico, ciprofloxacino ni ceftriaxona. Para azitromicina no existen valores de referencia oficiales, siendo éste el primer estudio nacional que incorpora este antimicrobiano. Considerando como valor de corte 8 ug/ml, se observó 67,6% de resistencia.

La actividad *in vitro* comparativa de los antimicrobianos estudiados, representada como CIM capaz de impedir el desarrollo de 50% y 90% de las cepas (CIM₅₀ y CIM₉₀) se presentan en la Tabla 1 y Tabla 2, para *Shigella sonnei* y *Shigella flexneri*, respectivamente.

El grupo de cepas de *Shigella sonnei* presentó altos porcentajes de resistencia frente ampicilina, cotrimoxazol y amoxicilina-ácido clavulánico (46,8%,

45,5% y 40,3%, respectivamente). El nivel de resistencia a cloranfenicol fue moderado (10,4%). Todas las cepas fueron sensibles a ácido nalidíxico, ciprofloxacino y ceftriaxona. Frente a azitromicina, 98,7% de las cepas fue resistente. Entre las cepas de *Shigella flexneri* se observó altos porcentajes de resistencia frente a ampicilina, cloranfenicol, cotrimoxazol y amoxicilina-ácido clavulánico (91,9%, 88,7%, 77,4% y 75,8%, respectivamente). No se encontraron cepas resistentes a ácido nalidíxico, ciprofloxacino ni ceftriaxona. Para azitromicina, la resistencia fue de 29,0%. En la Figura 2 se presentan comparativamente las tasas porcentuales de resistencia de ambas especies de *Shigella*: se observa que *Shigella flexneri* presenta mayores porcentajes de resistencia para todos los antibióticos estudiados, excepto para azitromicina.

Tabla 1. Susceptibilidad *in vitro* frente a 8 antimicrobianos, de 77 cepas de *Shigella sonnei* aisladas en la Región Metropolitana durante el verano 2004-2005

Antimicrobiano	Rango	CIM ₅₀ µg/ml	CIM ₉₀ µg/ml	% Resistencia
Ampicilina	1-128	8	>128	46,8
Amoxi-Clav	0,5/0,25-64/32	8/4	32/16	40,3
Cloranfenicol	1-128	4	8	10,4
Cotrimoxazol	0,125/2,375-16/304	1/19	>16/304	45,5
Ac. Nalidíxico	0,5-64	2	2	0,0
Ciprofloxacino	0,002-16	0,0156	0,0312	0,0
Ceftriaxona	0,0156-128	0,0312	0,0312	0,0
Azitromicina	0,0625-32	8	16	98,7

Tabla 2. Susceptibilidad *in vitro* frente a 8 antimicrobianos, de 62 cepas de *Shigella flexneri* aisladas en la Región Metropolitana durante el verano 2004-2005

Antimicrobiano	Rango	CIM ₅₀ µg/ml	CIM ₉₀ µg/ml	% Resistencia
Ampicilina	1-128	32	>128	91,9
Amoxi-Clav	0,5/0,25-64/32	16/8	32/16	75,8
Cloranfenicol	1-128	64	128	88,7
Cotrimoxazol	0,125/2,375-16/304	>16/304	>16/304	77,4
Ac. Nalidíxico	0,5-64	1	2	0,0
Ciprofloxacino	0,002-16	0,008	0,0156	0,0
Ceftriaxona	0,0156-128	0,0312	0,0625	0,0
Azitromicina	0,0625-32	2	8	29,0

Patrones de resistencia, según especie de *Shigella*. Al establecer los patrones de resistencia se excluyó a azitromicina, ya que se consideró un punto de corte arbitrario. De las 139 cepas de *Shigella*, 73,4% presentó resistencia a uno o más antimicrobianos, encontrándose 11 patrones distintos, 61,15% de las cepas presentó multiresistencia. En el grupo de *Shigella sonnei*, 55,8% presentó resistencia a uno o más antimicrobianos y 40,25% resultó ser multiresistente. En *Shigella flexneri* 95,2% presentó resistencia única y 87,1% multiresistencia. Los diferentes patrones de resistencia se muestran en la Tabla 3.

Clonalidad de cepas de *Shigella*. Se estudiaron 11 cepas de *S flexneri* y 15 de *S sonnei*, con distintos perfiles de resistencia. El análisis genético mostró

que las cepas de *S flexneri* no corresponden a una población clonal y se observan múltiples clones. Dentro de estos clones hay 2 estrechamente relacionados (con 3 cepas en cada uno), que muestran patrones de resistencia variados, incluyendo cepas sensibles y otras con diferentes determinantes de resistencia (Figuras 3 y 4).

En la Figura 5 se muestra el análisis genético de las cepas de *S sonnei*. Existen múltiples clones y se visualizan 3 agrupaciones; en el grupo A se observan 2 poblaciones clonales estrechamente relacionadas entre sí (96% de similitud), pero con patrones de resistencia que no son idénticos. En el grupo B se agrupan cepas sensibles y en el grupo C, que incluye varios clones, se observan diversos patrones de resistencia.

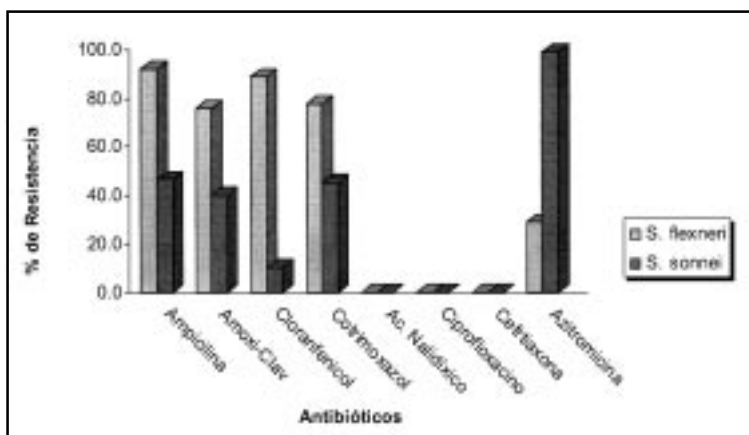


Figura 2. Niveles comparativos de resistencia frente a ocho antimicrobianos, de *Shigella flexneri* y *Shigella sonnei*, aisladas en la Región Metropolitana durante el verano 2004-2005.

Tabla 3. Patrones de resistencia frente a siete antimicrobianos, en cepas de *Shigella flexneri* y *Shigella sonnei* aisladas en la Región Metropolitana durante el verano 2004-2005

Patrones de resistencia	<i>Shigella sonnei</i>	<i>Shigella flexneri</i>	Total
AM	1	0	1
CAF	1	0	1
SXT	2	2	4
AM/ AMCL	2	0	2
AM/CAF	2	1	3
AM/SXT	3	1	4
CAF/SXT	1	1	2
AM/AMC/CAF	0	11	11
AM/AMC/SXT	25	2	27
AM/CAF/SXT	2	7	9
AM/AMC/CAF/SXT	4	34	38
Total	43	59	102

DISCUSIÓN

En América Latina, la epidemiología de la shigelosis se caracteriza por un amplio predominio de *S flexneri*, sin embargo, Chile se aparta de ese patrón y en diferentes estudios se ha observado una paridad en la incidencia de *S flexneri* y *S sonnei*^{3,6,17,23}. Existe escasa información respecto de los serotipos circulantes de *Shigella* en Sudamérica. Esta información es importante para el diseño y desarrollo de vacunas. En estudios previos realizados en la Región Metropolitana,

hemos observado que sólo unos pocos serotipos son responsables de los episodios de shigelosis^{10,23}. El presente estudio, con una cobertura más amplia de población, que incluye pacientes de distintos servicios de salud de la Región Metropolitana, confirma los hallazgos anteriores y muestra un espectro incluso más reducido de serotipos circulantes, siendo *S sonnei* y *S flexneri* 2a responsables de 95% de los casos detectados en el periodo de estudio.

Tradicionalmente, los grupos etáreos más afectados por las infecciones por *Shigella* spp, son los niños

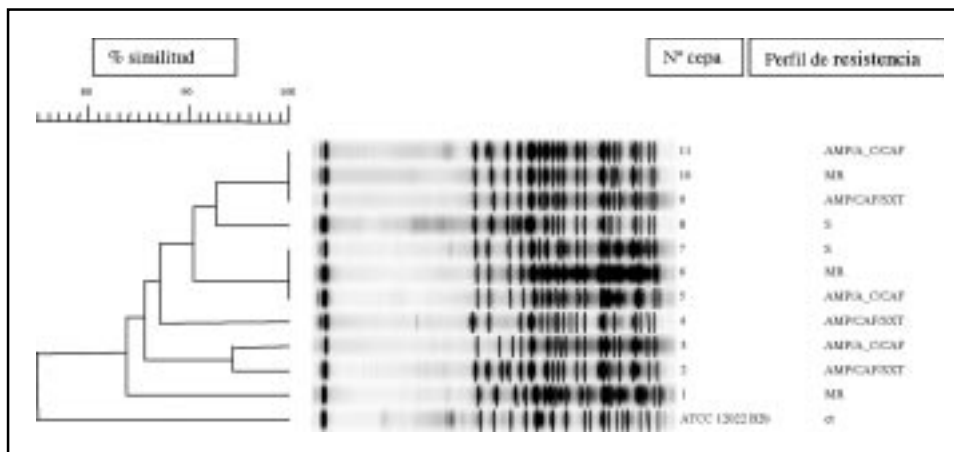
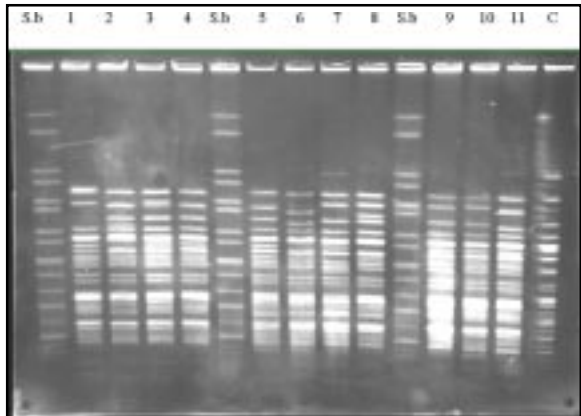


Figura 3. Dendrograma de cepas de *S flexneri*, asociado a patrón de resistencia (ampicilina (AMP), amoxicilina-ácido clavulánico (A_C), cloranfenicol (CAF), cotrimoxazol (SXT), multirresistentes (MR) y sensibles (S), verano 2004-2005.

Figura 4. Fotografía del gel que contiene a las cepas de *S flexneri* analizadas mediante PFGE. En la parte superior de la imagen está el número con que se identificó a cada cepa, la abreviación S.b, correspondiente a una cepa de *S braenderoup*, que se usó para estabilizar la imagen y C corresponde a la cepa control *S flexneri* ATCC 12022 B2b.



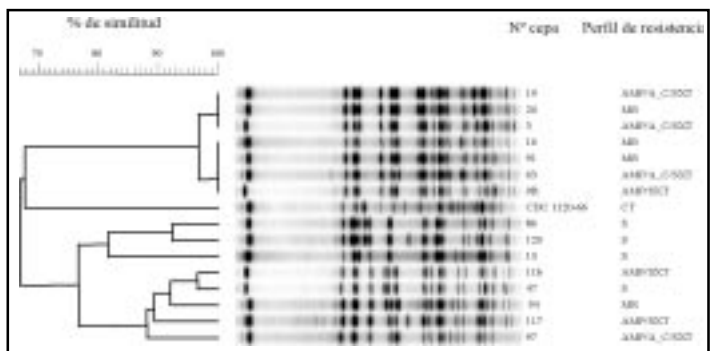
preescolares, entre los 2 y 4 años^{6,7}. En este estudio los aislamientos se agrupan en el segmento entre 4 y 6 años, pero con diferencias interesantes en la distribución por especie, observándose que *S flexneri* se concentra en niños menores de 2 años y *S sonnei* en los niños de 4 a 6 años. Analizando las diferencias en patrones de resistencia, esta información es importante de considerar frente a la aproximación clínica empírica de un caso de diarrea aguda; no tenemos una explicación para estas diferencias y el diseño de este estudio no permite esclarecerlo. También es interesante considerar esta distribución etárea en el momento de evaluar una vacuna contra shigelosis.

De los casos de diarrea asociada a *Shigella* confirmados durante el periodo de estudio, la mayoría necesitó solamente atención ambulatoria y esto se aplica especialmente a los episodios asociados a *S sonnei*, que afectó principalmente a los niños mayores. Este antecedente sumado a los patrones de resistencia de las cepas de *Shigella* con un alto porcentaje de multiresistencia, indica la necesidad de ser muy racionales con el uso de antimicrobianos, considerando que en nuestro medio, la mayoría de los cuadros son de severidad moderada y

autolimitados, que el éxito de los antimicrobianos será dudoso y puede contribuir a la selección de las cepas multiresistentes, por lo que el uso de antimicrobianos debe reservarse para las infecciones severas, en situación de un brote, o en pacientes inmunocomprometidos e idealmente conociendo la susceptibilidad antimicrobiana. Los cuadros graves, que requirieron hospitalización, se asociaron con mayor frecuencia a *S flexneri*, especie que comparativamente muestra mayor resistencia, por lo cual se deben ajustar las pautas de tratamiento a los patrones de resistencia, lo que limita las opciones terapéuticas a ciprofloxacino, ceftriaxona o ácido nalidíxico, según nuestros resultados.

Otra opción terapéutica que se ha planteado es el uso de azitromicina, la cual ha demostrado en estudios clínicos ser eficaz para el tratamiento de shigelosis³². Este antimicrobiano es interesante por tratarse de una familia diferente, sin resistencia cruzada con otras familias de antibióticos y por su farmacocinética, con altas concentraciones intracelulares y una vida media prolongada. Sin embargo, es difícil hacer recomendaciones mediante estudios *in vitro*, ya que no se cuenta con valores de corte para

Figura 5. Dendrograma de cepas de *S sonnei*, asociado a patrón de resistencia mostrado (ampicilina (AMP), amoxicilina-ácido clavulánico (A_C), cloranfenicol (CAF), cotrimoxazol (SXT), multiresistentes (MR) y sensibles (S), verano 2004-2005.



establecer la CIM que separe las poblaciones sensibles de las resistentes y permitir dar una orientación para el uso clínico. Se requiere de una correlación entre CIM y eficacia clínica para establecer un valor de corte.

Sin duda que los altos niveles de resistencia a antimicrobianos que exhiben las cepas de *Shigella* dificulta el manejo terapéutico en los casos más severos. Estudios de vigilancia de resistencia que hemos mantenido en algunas comunidades de nuestro país, como el área de Colina¹, muestran niveles elevados y ascendentes de resistencia a los antibióticos recomendados y estos niveles se mantienen a pesar de discontinuar el uso de algunos de estos antibióticos. La estabilidad de estos genes de resistencia está dada por su ubicación en los llamados "cassettes de resistencia", que corresponden a agrupaciones de genes que se traspasan en conjunto y se integran al genoma bacteriano. Lo importante desde el punto de vista práctico es que la administración de cualquiera de los antibióticos incluidos en el cassette, para cualquier indicación, seleccionará esta secuencia y contribuirá a la selección y persistencia de estas cepas resistentes.

El estudio molecular reveló que durante el verano 2004-2005, de cada especie de *Shigella* circularon diferentes clones y que no hay asociación estricta entre clon y perfiles de resistencia. Por una

parte, dentro de un clon se observan cepas con diferentes patrones de resistencia (Figura 3, grupo A) y por otro lado, cepas que comparten un mismo patrón de resistencia, no pertenecen al mismo clon (Figura 3). Esto podría explicarse porque algunos determinantes de resistencia se encuentran en plásmidos y ello no se visualiza mediante la técnica de PFGE que analiza el cromosoma bacteriano^{33,34}.

Este estudio mostró que la shigellosis en la Región Metropolitana se asocia a la presencia de un reducido número de serotipos, que se mantienen estables en los últimos años. Estos serotipos, representan expansiones de diferentes clones, que incluyen cepas con variados patrones de resistencia. Esta información indica que es factible pensar en la prevención y control de la shigellosis, mediante el uso de vacunas dirigidas contra los serotipos prevalentes.

Agradecimientos

A la Tecnólogo Médico, Sra. Alicia Ojeda, del Programa de Microbiología de la Facultad de Medicina, por la asesoría técnica en la serotipificación de *Shigella* y al Dr. Jorge Fernández, de la Unidad de Desarrollo del ISP, por su asesoría en la realización de la técnica de PFGE.

REFERENCIAS

1. FULLÁ N, PRADO V, DURÁN C, LAGOS R, LEVINE M. Surveillance for antimicrobial resistance profiles among *Shigella* species isolated from a semirural community in the northern administrative area of Santiago, Chile. *Am J Trop Med Hyg* 2005; 72: 805-54.
2. DELAPPE N, O'HALLORAN F, FANNING S, CORBETT-FEENEY G, CHEASTY T, CORMICAN M. Antimicrobial Resistance and Genetic Diversity of *Shigella sonnei* Isolates from Western Ireland, an Area of Low Incidence of Infection. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 1019-24.
3. KOTLOFF KL, WINICKOFF JP, IVANOFF B, CLEMES JD, SWERDLOW DL, SANSONETTI PJ ET AL. Global burden of *Shigella* infections: implications for vaccine development and implementation of control strategies. *Bulletin of the World Health Organization* 1999; 77: 651-66.
4. NAVIA M, CAPITANO L, RUIZ J. Typing and characterization of mechanisms of resistance of *Shigella* spp isolated from feces of children under 5 years old of age from Itakara, Tanzania. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 3113-7.
5. ROBERTS F, JENNISON A, VERMA N. The *Shigella flexneri* serotype Y vaccine candidate SFL124 originated from a serotype 2a background. *FEMS Microbiol Rev* 2005; 45: 285-9.
6. PRADO V, PIDAL P, ARELLANO C, LAGOS R, SAN MARTÍN O, LEVINE M. [Antimicrobial multiresistance of *Shigella* spp strains in a semirural community of north Santiago]. *Rev Méd Chile* 1998; 126: 1464-71.
7. HENRÍQUEZ M, MONTOYA R, VENEGAS G, HENRÍQUEZ P, APABLAZA P. Frecuencia y biodiversidad de algunas bacterias enteropatógenas aisladas en niños con síndrome disentérico agudo. *Rev Chil Infect* 1999; 16: 283-91.
8. LÓPEZ E, PRADO V, O'RYAN M, CONTRINI M. *Shigella* and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* causing bloody diarrhea in Latin America. *Infect Dis Clin North America* 2000; 14: 41-5.

9. NORIEGA F, MING LIAO F, MANEVAL D, REN S, FORMAL S, LEVINE M. Strategy for Cross-Protection among *Shigella flexneri* Serotypes. *Infect Immun* 1999; 67: 782-8.
10. FERRECCIO C, PRADO V, OJEDA A, CAYAZZO M, ABREGO P, GUERS L, LEVINE MM. Epidemiologic pattern of acute diarrhea and endemic *Shigella* infections in children in a poor periurban setting in Santiago, Chile. *Am J Epidemiol* 1991; 134: 614-27.
11. PRADO V, O'RYAN M. Acute gastroenteritis in Latin America. *Infect Dis Clin North America* 1994; 8: 77-106.
12. JENNISON A, VERMA N. *Shigella flexneri* infection: pathogenesis and vaccine development. *FEMS Microbiol Rev* 2004; 28: 43-58.
13. COHEN D, ASHKENAZI S, GREEN M, GDALEVICH M, ROBIN G, SLEPON R ET AL. Double-blind vaccine-controlled randomized efficacy trial of an investigational *Shigella sonnei* conjugate vaccine in young adults. *Lancet* 1997; 349: 155-9.
14. GAUDREAU C, BRUNEAU A. Outbreak of *Shigella flexneri* and *Shigella sonnei* enterocolitis in men who have sex with men, Quebec, 1999 to 2001. *CCDR* 2005; 31: 85-90.
15. VILA J, GASCON J, ABDALLA S, GÓMEZ J, MARCO F, MORENO A ET AL. Antimicrobial resistance of *Shigella* isolates causing Traveler's diarrhea. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 2668-70.
16. BENNISH M, WOJTYNIAK B. Mortality due to Shigellosis. Community and hospital data. *Rev Infect Dis* 1991; 13: 245-51.
17. PIDAL P, PRADO V, TRUCCO O, VALDIVIESO F, DÍAZ M, OJEDA A. Y GRUPO PRONARES. Panorama de la resistencia antimicrobiana de *Shigella* spp. En 10 hospitales chilenos Proyecto PRONARES. *Rev Panam Infectol* 1999; 1: S; 18-25.
18. BENNISH M. Potentially lethal complications of shigellosis. *Infect Dis* 1991; 13: 319-24.
19. CHU Y, HOUANG E, LYON D, LING J, NG T, CHENG A. Antimicrobial resistance in *Shigella flexneri* and *Shigella sonnei* in Hong Kong, 1986 to 1995. *Antimicrob Agents Chemoter* 1998; 42: 440-3.
20. MERINO L, HREŇUK G, RONCONI M, ALONSO J. Resistencia a antibióticos y epidemiología molecular de *Shigella* spp. en el nordeste argentino. *Rev Panam Salud Pública* 2004; 15: 219-24.
21. HOGE C, GAMBEL J, SRIJAN A, PITARANGSI C, ECHEVERRÍA P. Trends in antibiotic resistance among diarrheal pathogens isolated in Thailand over 15 years. *Clin Infect Dis* 1998; 21: 341-5.
22. BENNISH M, SALAM M, HOSSAIM M, MYAUX J, KHAN E, CLAKRABORTY J ET AL. Antimicrobial resistance of *Shigella* isolated in Bangladesh, 1983-1990: Increasing frequency of strains multiply resistant to ampicillin, trimethoprim-sulfamethoxazole, and nalidixic acid. *Clin Infect Dis* 1992; 14: 1055-60.
23. PRADO V, LAGOS R, NATARO J, SAN MARTÍN O, ARELLANO C, WANG J ET AL. Population-based study of the incidence of *Shigella* diarrhea and causative serotypes in Santiago, Chile. *Pediatr Infect Dis J* 1999; 18: 500-5.
24. TOMPKINS L. The use of molecular methods in infectious diseases. *N Engl J Med* 1992; 327: 1290-7.
25. HIDALGO M, REALPE M, MUÑOZ N, SICARD D, SILVA E, AGUDELO C, CASTAÑEDA E. Brote de enfermedad diarreica aguda causado por *Shigella flexneri* en una escuela de Madrid, Cundinamarca: caracterización fenotípica y genotípica de los aislamientos. *Biomédica* 2002; 22: 272-9.
26. ALCOBA-FLÓREZ J, PÉREZ-ROTH E, GONZÁLEZ-LINARES S, MÉNDEZ-ÁLVAREZ S. Outbreak of *Shigella sonnei* in a rural hotel in La Gomera, Canary Islands, Spain. *Int Microbiol* 2005; 8: 133-6.
27. CLEMENS J, KOTLOFF K, KAY B. Generic protocol to estimate the burden of *Shigella* diarrhea and dysenteric mortality. World Health Organization. *Department of Vaccines and Biologicals/Doc 99*. 1999; 26: 1-37.
28. M7 NCCLS DOCUMENTS. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that grow aerobically; Approved Standard. Sixth Edition 2003; vol 23 No 2.
29. ZAR JH. (1999). *Biostatistical análisis*, 4ª edición, Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey.
30. BIRREN B, LAI E. (1993) *Pulsed Field Gel Electrophoresis a practical guide*. Academic Press, Inc., San Diego, California.
31. LITWIN C, LEONARD R, CARROL K, DRUMMOND W, PAVIA A. Characterization of endemic stains of *Shigella sonnei* by use of plasmid DNA analysis and pulsed field gel electrophoresis to detect patterns of transmission. *J Infect Dis* 1997; 175: 864-70.
32. BASUALDO W, ARBO A. Randomized comparison of azithromycin versus cefixime for treatment of shigellosis in children. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22: 374-7.
33. GREENWOOD D. Resistance to antimicrobial agents: a personal view. *J Med Microbiol* 1998; 47: 751-5.
34. TORO C, FARFÁN M, CONTRERAS I, FLORES O, NAVARRO N, MORA G, PRADO V. Genetic analysis of antibiotic-resistance determinants in multidrug-resistant *Shigella* strains isolated from Chilean children. *Epidemiol Infect* 2005; 133: 81-6.