

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA**

**INSTITUTO POLITECNICO DE LA SALUD**

**DR. LUIS FELIPE MONCADA**

**UNAN – MANAGUA**



**Seminario de Graduación para Optar por el Título de:**

**Licenciatura en Bioanálisis Clínico**

**Tema: *Disentería Bacilar***

**Sub Tema: *Shigella spp.***

**AUTORES:**

**Br. Natalia de los Ángeles Escobar Masís**

**Br. Dirialet Keyly Tercero Zeledón**

**TUTOR:**

**Oscar Heriberto Arbizú**

**Msc. Microbiología Médica**

**Managua, 2015**



## DEDICATORIA

A Dios, Padre Celestial por habernos permitido culminar nuestra carrera y darnos salud para lograr nuestros objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A nuestras familias, que siempre nos dieron su amor y apoyo incondicional.

A todos los maestros que fueron parte de nuestra educación profesional.

A la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua por permitirnos ser parte de una generación de triunfadores y personas productiva para el país.

Natalia Escobar Masís

Dirialet Tercero Zeledón.





## AGRADECIMIENTO

Hoy por fin hemos llegado a la culminación de la etapa más importante de nuestra vida como profesional, por este motivo le agradecemos primeramente a Dios, quien ha sido nuestro guía a lo largo de nuestra carrera, dándonos sabiduría y fortaleza en el transcurso de nuestro estudio; a nuestros seres amados quien son nuestro soporte y motor para no caer en los momentos de debilidad.

Agradezco la oportunidad y apoyo que me dieron tres grandes maestros: Msc. Lorena Ortega, Msc. Juan Francisco Rocha y Msc. Jaime López Lowery, por ayudarme a terminar mi carrera en esta Universidad. (Dirialet Tercero).

Agradezco el apoyo que me brindó el Licenciado Bismarck Muñoz y Licenciado Roberto Flores a través de su enseñanza y críticas constructivas que me ayudaron a mejorar como persona y como estudiante en todo mi proceso de aprendizaje. (Natalia Escobar Masís).

A nuestro tutor Msc. Arbizú por el apoyo brindado durante nuestro Seminario de Graduación. Y a cada uno de los maestros que han sido parte de nuestra formación, transmitiéndonos sus conocimientos y apoyo cuando hubo duda o necesidad de información.





## VALORACION DEL ESPECIALISTA

Las personas infectadas con la bacteria la excretan en sus heces, las cuales pueden propagar la bacteria al agua o a los alimentos, o directamente a otra persona. Recibir mínima la bacteria *Shigella* en la boca es suficiente para causar infección.

*Shigella* es un tipo de bacteria que puede infectar el aparato digestivo, provocando un amplio abanico de síntomas, desde la diarrea, los retortijones, los vómitos y las náuseas hasta complicaciones y enfermedades más graves

Los brotes de shigelosis, están asociados con condiciones sanitarias deficientes, agua y alimentos contaminados, al igual que condiciones de vida en hacinamiento.

La shigelosis es común entre los viajeros a países en desarrollo y obreros o residentes en campos de refugiados.

Por tal razón creo que el abordaje de esta temática es importante, por los pocos estudios realizados y los Subregistro.

---

Msc. Oscar Arbizú Medina  
Profesor BAC y Microbiología  
IPS UNAN MANAGUA





## RESUMEN

*Shigella spp*, es un género de bacterias Gram negativas; pertenece al grupo de las enterobacterias, tienen forma de bacilo, son inmóviles, no forman esporas e incapaces de fermentar la lactosa. Fue descubierta por el científico Japonés Kiyoshi Shiga en el año de 1897 a quien deben su nombre.

Existen cuatro especies de *Shigella* patógenas para el ser humano, *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. sonnei* y *S. boydii*. Estas especies pueden ocasionar enfermedades intestinales graves, incluida la shigelosis, también conocida como disentería bacilar, cuyos síntomas incluyen diarrea, dolor abdominal, vómito y fiebre. Ha sido demostrado que sólo de 10 a 100 organismos causan la enfermedad, una dosis infectiva sustancialmente más baja que la mayoría de las demás bacterias entéricas; enteritis aguda cuyo periodo de incubación suele ser de 24 a 72 h.

La shigelosis constituye un importante problema de salud pública a mundial, debido fundamentalmente a la facilidad de transmisión, la emergencia de cepas resistentes a antimicrobianos y la falta de vacunas efectivas.

Los mecanismos implicados en la disentería bacilar son complejos. Los microorganismos deben sobrevivir su paso a través del tracto gastrointestinal superior, unirse a las células del colon y penetrar en las células epiteliales. Una vez dentro de éstas, se multiplican y pasan de una célula a otra. La multiplicación bacteriana produce la inflamación y muerte de las células





epiteliales, ulceración, deficiencia en la absorción de líquidos por el colon y evacuación de sangre, moco y pus.

La capacidad para sobrevivir a las defensas del huésped se atribuye a los antígenos O, que le confiere una estructura lisa (LPS), denominada tipo de colonia en fase I, demostrada mejor con *S. sonnei* y *S. flexneri*. Estas bacterias poseen un gran plásmido de 120-140 Mda La pérdida de este plásmido produce la formación de colonias rugosas y organismos no virulentos

El aislamiento de especies de *Shigella* se puede llevar a cabo mediante la utilización de medios de enriquecimiento, como el Caldo Tetrionato y el Caldo Seletino F, estos tipos de caldos son utilizados para aumentar la probabilidad de crecimiento de ciertas especies bacterianas mientras se inhiben microorganismos no deseados; las muestras deben de ser recolectadas en la etapa inicial o fase aguda de la enfermedad, cuando este patógeno se encuentra en mayor número en las heces o antes de administrar cualquier antibiótico; deben de ser heces recién evacuadas o que contengan moco o sangre.

El aislamiento e Identificación de *Shigella* consta de métodos que se basan en sus características bioquímicas y antigénicas, describiéndose las cuatro especies mencionadas anteriormente, todas ellas pueden causar disentería, aunque con diferente gravedad.





Entre las pruebas de escrutinio para el aislamiento e identificación de *Shigella*, se realiza el examen microscópico, siembra directa en placa en medios de agar e identificación bioquímica y el diagnóstico serológico

La utilización de los medios de cultivo se basa, en evidenciar la presencia o ausencia de diferentes enzimas, que dirigen el metabolismo bacteriano de las especies *Shigella* a lo largo de diversas vías. Un conjunto determinado de enzimas o su carencia discrimina género y especie bacteriana.

Existen tres tipos de resistencia bacteriana de *Shigella spp*; la Resistencia Natural o Intrínseca si carecen de diana para un antibiótico (como la falta de pared en el *Mycoplasma* en relación con los betalactámicos); Resistencia Adquirida es la realmente importante desde un punto de vista clínico: es debida a la modificación de la carga genética de la bacteria y puede aparecer por mutación cromosómica o por mecanismos de transferencia genética y la Resistencia Transmisible es la más importante, estando mediada por plásmidos, transposones o integrones que pueden pasar esta resistencia de una bacteria a otra.

El origen genético de la resistencia de *Shigella spp* a los antimicrobianos se debe fundamentalmente a la adquisición de plásmidos y a mutaciones cromosómicas capaces de transferir frecuentemente la resistencia de una cepa a otra, impidiendo que el antibiótico ejerza su mecanismo de acción.





La OMS y la CLSI recomienda ciertos antibióticos para las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana de *Shigella spp* y para el tratamiento de shigelosis, entre ellos: Trimetoprim – Sulfametoxazole (SXT), Ampicilina (AMP), Tetraciclina (TET), Acido Nalidíxico (NAL), Ciprofloxacino (CIP), Cloranfenicol (CHL), Ceftriaxona (CRO), orientados a disminuir la duración del cuadro clínico, al mismo tiempo evitar complicaciones del estado de salud de las personas que padecen esta enfermedad.





<b>INDICE</b>	<b>Pag.</b>
<i>DEDICATORIA</i>	<i>i</i>
<i>AGRADECIMIENTO</i>	<i>ii</i>
<i>VALORACION DEL ESPECIALISTA</i>	<i>iii</i>
<i>RESUMEN</i>	<i>iii</i>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>II. JUSTIFICACION</b>	<b>5</b>
<b>III. OBJETIVO GENERAL Y OBJETIVOS ESPECIFICOS</b>	<b>6</b>
<b>Objetivo General</b>	<b>6</b>
<b>Objetivos Específicos</b>	<b>6</b>
<b>IV. MARCO TEORICO</b>	<b>7</b>
<b>4.1 Enterobacterias (Generalidades)</b>	<b>7</b>
<b>4.2 Características Microbiológicas y Taxonómicas de <i>Shigella spp</i></b>	<b>10</b>
<b>4.3 Patogénesis causada por <i>Shigella spp</i></b>	<b>17</b>
<b>4.4 Patologías causada por <i>Shigella spp</i></b>	<b>26</b>
<b>4.5 Métodos de Aislamiento e Identificación de <i>Shigella spp</i></b>	<b>32</b>
<b>4.6 Medios de Cultivos empleados para el Aislamiento e Identificación de <i>Shigella spp</i> provenientes de una Muestra de Materia Fecal y Alimento</b>	<b>38</b>





<b>4.7 Mecanismos de Resistencia de <i>Shigella spp</i> a los diferentes Antimicrobianos.</b>	<b>60</b>
<b>V. CONCLUSION</b>	<b>75</b>
<b>VI. BIBLIOGRAFIA</b>	<b>77</b>
<b>VII. GLOSARIO</b>	<b>85</b>
<b>IIIX. ANEXOS</b>	





## I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades diarreicas representan una causa significativa de morbilidad y mortalidad en todo el mundo. La etiología infecciosa de estas enfermedades es muy variada, incluyendo agentes virales, protozoarios y bacterias, asociados éstas últimas a los casos de diarrea en países en vías de desarrollo y una de las primeras causas de muerte en niños menores de cinco años por problemas intestinales. (Organización Panamericana de la Salud, 2001); (O. P., 2000).

En la historia de la microbiología, se han enfocado estudios para la distinción entre la disentería amebiana (descrita por Lösch, en 1875) y la bacilar. Muchos investigadores europeos, americanos y japoneses pensaban que había una disentería bacteriana, pero no la habían podido demostrar. La causante de ésta última fue identificada por Kiyoshi Shiga, de cuyo nombre deriva el término que hoy utilizamos de shigelosis, que la descubrió en 1897, siendo ésta un tipo de bacteria que afecta el aparato digestivo. (Bennish et al., 2003).

El primer aislamiento del género *Shigella* se atribuye a Chantemesse y Widal en 1888. Posteriormente, en 1897, Kiyoshi Shiga durante una epidemia de disentería ocurrida en Japón, hizo una descripción más completa del género; por este trabajo clásico, el nombre de Shiga se honra en el género designado como *Shigella* y el organismo que se identificó se denominó “*Bacillus dysenteriae*” hoy *Shigella dysenteriae* tipo 1. (Bennish et al., 2003).





*Shigella spp*, es una bacteria responsable de originar infecciones intestinales e intoxicaciones alimenticias que afecta no sólo el ámbito internacional sino que tiene un alto significado sobre la población nicaragüense con gran repercusión al ámbito socioeconómico del país ya que las ausencias forzadas afectan la productividad de todo el sistema. (OPS, 2001); (OPS, 2000).

La shigelosis es una enfermedad diarreica aguda de tipo inflamatorio, ocasionada por *Shigella spp*, enfermedad invasiva que afecta el íleon terminal y todo el colon transmitida por la ingesta de alimentos contaminados, considerada como una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en niños con diarrea en países subdesarrollados. (Heymann, 2011).

Se caracteriza por la presencia de diarrea acuosa sanguinolenta, acompañada de fiebre, náuseas, vómitos, cólicos, tenesmo y a veces toxemia. En los casos típicos las deposiciones contienen sangre y moco (disentería), sin embargo muchos casos tienen como cuadro inicial el de diarrea acuosa cuya complicación más importante es la deshidratación. (Gaytán et al., 2012 - 2013).

Los alimentos o el agua contaminada con la bacteria constituyen el principal factor de riesgo para adquirir la infección; adicionalmente, el hacinamiento y las pobres condiciones de higiene permiten la transmisión de persona a persona y por tanto, la mayor posibilidad de diseminación. (Hidalgo et al., 2008).





La gravedad de la infección y la tasa de mortalidad dependen de muchos factores relacionados al hospedero como el estado nutricional e inmunológico de la persona, el serogrupo y serotipo de la bacteria. (Heymann, 2011).

Con base en los antígenos somáticos en el género *Shigella*, se han descrito 43 serotipos y cuatro serogrupos: el serogrupo A (*S. dysenteriae*), el B (*S. flexneri*), el C (*S. boydii*) y el D (*S. sonnei*). Los cuatro serogrupos de *Shigella*, pueden causar enfermedad, ya sea como casos esporádicos o en brotes. (Hidalgo, 2008).

*Shigella dysenteriae* (Grupo A), es considerado el más patógeno, presenta 13 serotipos, el serotipo 1 produce la toxina Shiga involucrada en el síndrome urémico-hemolítico que tiene una mortalidad cercana al 20%. *Shigella flexneri* (Grupo B) presenta 6 serotipos, algunos de los cuales están involucrados con el Síndrome de Reiter, un tipo de artritis reactiva ligada a factores genéticos y la infección con algunos patógenos bacterianos. *Shigella boydii*, (Grupo C) cuenta con 19 serotipos (inicialmente numerados de 1 al 20, pero el serotipo 13 fue reclasificado como *Escherichia albertii*, *Shigella sonnei* (Grupo D) cuenta con un solo serotipo. Los grupos C y D causan un cuadro infeccioso generalmente auto limitado, con una baja mortalidad. (Baca et al., 2014).

La distribución geográfica de los serogrupos de *Shigella* no es homogénea, algunos son prevalentes en determinadas regiones del mundo e históricamente se registran modificaciones en la distribución. En general *Shigella flexneri* es más frecuente en países en desarrollo y *Shigella*





*sonnei* lo es en países desarrollados. *Shigella dysenteriae* es frecuente en África central, Asia y Centroamérica. (Baca et al., 2014).

Entre los marcadores fenotípicos, el serotipaje es uno de los métodos clásicos de tipificación de cepas. Los diferentes serotipos de *Shigella* muestran cierta variación en cuanto al espectro de las manifestaciones clínicas que produce, las cuales van desde formas leves hasta cuadros clínicos muy graves, por lo que el conocimiento de cuál o cuáles serotipos circulan reviste gran importancia médica y epidemiológica. (Díaz Rigau et al., 2009).

La susceptibilidad antimicrobiana, además de guiar al médico hacia una terapia correcta y prevenir el uso indiscriminado de antibióticos, es uno de los medios más usados para la caracterización fenotípica de las diferentes especies de *Shigella*, pues permite la diferenciación o tipaje de cepas, así como brinda el conocimiento de los patrones de multiresistencia existentes en un país, región o continente. (Díaz Rigau et al., 2009).

La creciente resistencia a los antimicrobianos, limita el uso de tratamiento empírico; diversos estudios en la última década han reportado un incremento de cepas resistentes a la Ampicilina, el Trimetoprim/Sulfametoxazole, las Tetraciclinas, el Cloranfenicol y al Acido Nalidíxico. La aparición de aislamientos de cepas multidrogoresistentes (MDR) de *Shigella* es una preocupación creciente en todo el mundo. La mayoría de los casos ocurren en niños, en general transmitidos por contacto directo. (Scull, 2009).





## II. JUSTIFICACION

En la actualidad, las enfermedades de transmisión alimentaria, incluyendo las diarreas e intoxicaciones, constituyen uno de los problemas de salud pública de mayor importancia a nivel mundial, ya que ocasionan alta morbilidad y mortalidad, generan grandes costos a los servicios de salud, pérdidas económicas, demandas y pérdida de confianza de los consumidores; estos hallazgos evidencian deficiencias en la cadena de transporte, conservación y manipulación de los alimentos, así como en la higiene personal.; *Shigella spp*, es causante de la disentería bacilar, enfermedad infecciosa a nivel intestinal provocada por la ingesta de alimentos contaminados con este microorganismo o sus toxinas, en cantidades suficientes para afectar la salud del consumidor, por lo que se reconoce como una bacteria causante de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). En los países subdesarrollados, las ETA suelen provenir de alimentos de producción artesanal de puestos no autorizados, hábitos alimentarios inadecuados y malas prácticas personales, lo que se traduce en un incremento de las enfermedades diarreicas agudas.

Con la presente información se pretende ampliar y enriquecer nuestros conocimientos acerca de la importancia de *Shigella spp*, y la susceptibilidad de contaminación asociados a cambios globales en los que se puede señalar el crecimiento de la población, la pobreza, la urbanización en los países subdesarrollados, el comercio internacional de alimentos humanos y animales, así como nuevas mutantes de este agente con una mayor patogenicidad; al mismo tiempo ser un portador o fuente de información a otros lectores para uso de investigación.





### III. OBJETIVO GENERAL Y OBJETIVOS ESPECIFICOS

#### Objetivo General

Describir la importancia de *Shigella spp*, causante de Disentería Bacilar.

#### Objetivos Específicos

1. Describir las características Microbiológicas y Taxonómicas de *Shigella spp*
2. Explicar la patogénesis y patología causada por *Shigella spp*.
3. Mencionar los métodos de identificación.
4. Explicar los Mecanismos de Resistencia de *Shigella* frente a los antimicrobianos.





## IV.MARCO TEORICO

### 4.1 Enterobacterias (Generalidades)

La familia Enterobacteriaceae, constituye un grupo grande y heterogéneo de bacterias Gram negativas aerobios o anaerobios facultativos con diversas características ecológicas y patogénicas. (Rodríguez et al., 2010).

Las Enterobacterias, son bacterias Gram negativas que contienen más de 30 géneros y más de 100 especies y pueden tener morfología de bacilos o cocos. Reciben su nombre por la localización habitual como saprofitos en el tubo digestivo, aunque se trata de microorganismos ubicuos, encontrándose de forma universal en el suelo, el agua y la vegetación, así como formando parte de la flora intestinal normal de muchos animales además del hombre. (A. Puerta & F. Mateo, 2005).

Ceden con relativa facilidad a desinfectantes comunes, incluido el cloro. Con frecuencia se encuentran especies de Enterobacterias en la bioindustria: para comprobar la sanidad de la fermentación de quesos y productos lácteos, alcoholes y en tratamientos médicos como la producción de toxinas, en el uso de cosméticos y fabricación de agentes antivirales de la industria farmacéutica, etc. (A. Puerta & F. Mateo, 2005).





Las Enterobacterias no forman esporas, algunas producen toxinas, pueden ser encapsuladas o no encapsuladas y son organismos catalasa positiva. Son quimioheterótrofos, es decir, utilizan compuestos orgánicos como fuente de carbono y nitrógeno, generalmente sólo con D-glucosa, aunque algunas requieren aminoácidos y vitaminas. La temperatura óptima de crecimiento es de entre 22 °C y 37 °C. (Murray & P.R, 1995).

Las diferencias entre los nombres de los diversos géneros provienen de criterios más precisos, como la fermentación de los diferentes azúcares, la producción o no de azufre, la presencia de enzimas metabólicas ( $\beta$  galactosidasa, desaminasas, descarboxilasas), etc. Los serotipos de importancia médica y sanitaria pueden distinguirse entre sí por la presencia o ausencia de antígenos en su constitución celular, tales como en el lipopolisacárido (antígeno O), el antígeno flagelar (antígeno H) o el antígeno capsular (antígeno K). (Gibson GR. & Román, 1995).

Son abundantes en la naturaleza, en particular en medios húmedos y por ser expulsadas por las heces, funcionan como mediadores epidemiológicos de salubridad e higiene poblacional. (Montiel & Zambrano, 2005).

La presencia de enterobacterias dentro del organismo es normal, pero puede determinar la aparición de infecciones, cuya gravedad depende principalmente de la capacidad patológica o de la virulencia de la especie en cuestión y de las características del hospedador. (Butzby et al.,)





También las enterobacterias son causas de enfermedades por la ingesta de alimentos que contienen microorganismos vivos perjudiciales. En general, son determinadas por la invasión, multiplicación y alteraciones de los tejidos del huésped, producidas por los microorganismos transportados por los alimentos como la shigelosis, salmonelosis, listeriosis, triquinosis, hepatitis A y la toxoplasmosis, entre otras. (Butzby et al., 1996); (Jay et al., 2002).

Entre las llamadas enterobacterias es de nuestro interés *Shigella spp* por ser un organismo que resulta patógeno para el ser humano por la susceptibilidad de su contaminación a través de los alimentos y el agua; sin embargo influyen muchos otros factores que predisponen al ser humano a la contaminación con esta bacteria: El estado de salud de la persona, la edad y otros elementos como personas inmunocomprometidas o desnutridas, mujeres embarazadas que suelen ser los huéspedes más sensibles a las ETA. (Keusch GT et al., 1995).

El ambiente que rodea el alimento, desde su origen en la producción primaria hasta que llega al consumidor después de los diferentes procesos de transformación, ejerce una influencia decisiva para obtener un ambiente inocuo, libre de contaminantes que puedan dañar la salud. Por esta razón se promueve la inocuidad de los alimentos mediante un enfoque integral que incluye todos los eslabones de la cadena del producto: finca, planta de procesamiento, transporte, almacenamiento, manipulación domiciliaria y las prácticas de cocción, incluidos los sucesos de contaminación cruzada. (Pérez et al, 2004).





## 4.2 Características Microbiológicas y Taxonómicas de *Shigella spp*

La shigelosis, también llamada disentería bacilar, es una infección causada por bacterias del género *Shigella* que contiene cuatro subgrupos con diferente capacidad patogénica. (Camacho AI et al, 2013).

Según la Novena Edición del Manual de Bacteriología Sistemática, el género *Shigella* está compuesto de 4 serogrupos y 43 serotipos, y se ubica taxonómicamente en (Garrity et al., 2003):

- Reino: Procarionte
- División I: Gracilicutes
- Clase I: Bacterias
- Familia: Enterobacteriaceae
- Tribu: *Escherichiae*
- Género: *Shigella*
- Especies:
  - S. dysenteriae* (A) (13 serotipos)
  - S. flexneri* (B) (6 serotipos)
  - S. boydii* (C) (19 serotipos)
  - S. sonnei* (D) (1 serotipo)

*Shigella spp*, son microorganismos Gram-negativos, pequeños, de 1.5  $\mu\text{m}$  de longitud por 0.8  $\mu\text{m}$  de diámetro, no encapsulados, anaerobios facultativos, inmóviles, oxidasa negativa, no fermenta lactosa, excepto *Shigella sonnei* que lo hace lentamente y fermentación de glucosa sin





producción de gas. Posee capacidad patógena, causando enteritis invasora. *Shigella spp*, alcanza la submucosa del colon y es capaz de ulcerar esos tejidos, pero sólo produce bacteremia en casos excepcionales, se encuentra habitualmente como saprófito en el tubo digestivo, pero también se pueden encontrar de forma universal en el suelo, el agua y la vegetación. (A. Puerta & F. Mateo, 2005). (Romero Cabello, 1999).

Las cuatro especies o grupos principales de *Shigella*, se agrupan serológicamente sobre la base de los antígenos somáticos O (unidades repetitivas de carbohidratos) componentes del lipopolisacárido (LPS). Hay gran sobreposición en la conducta serológica de las diferentes especies y la mayor parte de ellas comparten antígenos somáticos con otros bacilos intestinales (Sonnenwirth, 1990).

Esta disociación ha permitido descubrir la función de un plásmido, en el poder invasivo o patógeno de las *Shigella*. (CNDR/MINSA, 2004).

1. Las colonias fase I poseen un plásmido que confiere características invasivas o virulentas.
2. Las colonias fase II han perdido ese plásmido, no son invasivas o virulentas.

La pérdida del plásmido no sólo significa un cambio en el aspecto de la colonia, también en la especificidad antigénica y en el potencial patógeno. (CNDR/MINSA, 2004).





La especificidad de los antígenos no es absoluta, son posibles reacciones antígeno-anticuerpo (Ag-Ac) falsamente positivas debido a la reactividad cruzada, contienen antígenos O menores, que se tienen en cuenta para subagruparlos y se designan con números arábigos. Estos subgrupos son similares bioquímicamente, mientras que, el serogrupo D es diferente. (World Health Organization, 2005; (Quinteros, 2000).

Dentro de la especie *dysenteriae*, se agrupan 13 serotipos del 1 al 13, con mayor importancia clínica el serotipo 1 causante de disentería bacilar. Esta especie tiene la particularidad de no fermentar el manitol y además: (CNDR/MINSA, 2004).

1. Ausencia de catalasa, contraria a las demás Enterobacterias.
2. Posee una enzima  $\beta$ -galactosidasa muy activa (prueba de ONPG rápidamente positiva, en menos de una hora). *S. dysenteriae* 6, a diferencia de *S. dysenteriae* 1 es ONPG lenta (18 horas).

Dentro de la especie *flexneri* se agrupan 6 serotipos del 1 al 6. Dentro de los serotipos 2 y 3 se agrupan subtipos a y b que son variaciones menores ligadas a conversión bacteriofágica (se refiere a fagos, cierto tipo de virus que infectan bacterias y que son útiles para clasificarlas) realizada sólo en laboratorios especializados. El serotipo de *Shigella flexneri* 6 posee variedades bioquímicas que producen poco gas a partir de la glucosa en el sitio de inoculación del agar inclinado Triple Sugar Agar o Kligler Iron Agar. (CNDR/MINSA, 2004).





Dentro de la especie *boydii*, se agrupan 19 serotipos del 1 al 19. El serotipo de *Shigella boydii* 14 tiene la particularidad de producir poco gas en el sitio de inoculación. El serotipo 9 es ONPG positiva. (CNDR/MINSA, 2004).

Dentro de la especie *sonnei* existen dos tipos de cepas con características genotípicas y fenotípicas que sirven como orientación en su diagnóstico microbiológico: (CNDR/MINSA, 2004). (CNDR/MINSA, 2004).

1. Colonias de fase I son lisas, de contorno circular y convexo. Los antígenos de fase I son aglutinables por antisueros para antígeno de fase I.
2. Colonias de fase II son rugosas, de contornos irregulares. Los antígenos de fase II son aglutinables por antisueros para antígeno de fase II.

Algunas cepas poseen antígeno capsular (K), que no es importante para el serotipaje, pero cuando está presente, puede interferir en las reacciones serológicas del antígeno O. Este antígeno K es termolábil y se elimina por ebullición de la suspensión celular, antes de la tipificación del microorganismo. En los serotipos del 1-5 del serogrupo B, se han demostrado fimbrias, todas estas estructuras son inmunológicamente idénticas. *Shigella* es inmóvil y carece de antígenos flagelares H. Los aislamientos sospechosos de *Shigella* deben confirmarse con sueros polivalentes para cada una de las cuatro especies. (Mc Faddin, 2002); (Niyogi, 2005).

La contaminación de los alimentos con *Shigella*, puede provenir del contacto directo o indirecto con materia fecal de personas infectadas, a través de aguas contaminadas, plagas





(moscas) o por falta de higiene y malas prácticas del manipulador durante la preparación del alimento; Transmitida por la ruta fecal-oral con una baja dosis infectiva, la infección puede surgir después de ingerir muy pocos microorganismos (de 10 a 100) a través de alimentos contaminados o bien por contacto directo con personas infectadas. Esta enfermedad se presenta con mayor frecuencia en instituciones (escuelas, clubes, geriátricos, entre otros) y hogares con niños, donde se aumenta la probabilidad de contaminación fecal. (Bellorína et al., 2008).

La mayoría de los casos ocurren en niños menores de 10 años. La shigelosis es endémica en climas tropicales y templados, y muestra una fuerte estacionalidad, siendo más común su incidencia en verano que en invierno. (Heymann, 2011).

*Shigella spp*, crece en alimentos con bajo pH como frutas y verduras. Sobrevive durante mucho tiempo en alimentos de pH neutro y a bajas temperaturas, en alimentos cerrados al vacío o bajo atmósferas modificadas y en el agua. Es sensible a las temperaturas de cocción de los alimentos, pero bajo ciertas condiciones puede sobrevivir en los alimentos por largos períodos si la temperatura se mantiene en 25°C. Puede sobrevivir en la harina y leche pasteurizada hasta 170 días, en la clara de huevo por 20 días, los camarones por 150 días y en las ostras por 30 días; Sin embargo, en la práctica muy raramente se puede aislar de los alimentos procesados, dado el tiempo transcurrido entre la recolección y el procesamiento de la muestra. (Forbes et al., 1998).





Los alimentos comúnmente asociados a la transmisión de la enfermedad son:

- Agua de consumo de fuente no segura, como, el agua de pozo contaminada por pozos ciegos o agua de lagos o ríos sobre los que se vierten aguas residuales. (RENAPRA – ANMAT, 2010), 3-4.
- Verduras y frutas provenientes de huertas donde se utilizan aguas servidas para el riego. (RENAPRA – ANMAT, 2010), 3-4.
- Comidas que requieren mucha manipulación, que se sirven frías sin proceso de cocción y que ante falta de higiene del elaborador pueden contaminarse: ensaladas con varios ingredientes, vegetales crudos, lácteos y aves. (RENAPRA – ANMAT, 2010), 3-4.

Entre las llamadas enterobacterias es de nuestro interés *Shigella spp*, por ser un organismo que resulta patógeno para el ser humano, por la susceptibilidad de contaminación a través de la preparación de alimentos y el consumo de agua contaminada, hecho inevitable ya que suelen ser actividades desempeñadas por el hombre de forma cotidiana. (MINSAs, 1987).

Los serotipos de *Shigella* se diferencian entre sí por sus características bioquímicas como fermentación del D-manitol y de su estructura antigénica como el antígeno O de la capa de lipopolisacárido en la superficie celular bacteriana. (Mandell, U, Douglas, Jr., Bennett & E , 1997).

Las especies de *Shigella spp*, son muy sensibles a fluctuaciones de temperatura y a condiciones ambientales desfavorables. Sin embargo, son tolerantes a pH bajos, por lo que unas





pocas bacterias pueden soportar la acidez del estómago y luego colonizar el tracto digestivo. Esta facultad, sumada a que son infectivas a bajas dosis, contribuye a su patogenicidad. (Forbes, A, Sahm & Weissfeld, 1998).

El no lavarse las manos después de defecar, puede diseminar la infección a otras personas por contacto físico directo o de manera indirecta al contaminar los alimentos. Como resultado de la contaminación fecal directa puede ocurrir la transmisión por el agua y la leche; las moscas transportan los microorganismos de letrinas a alimentos no refrigerados, donde los microorganismos sobreviven y se multiplican. (OMS, 1990).

Son bacterias de crecimiento rápido en medios de baja selectividad como Agar MacConkey y en medios altamente selectivos como Agar Salmonella Shigella, excepto algunas cepas de *Shigella dysenteriae* serotipo 1 que pueden ser inhibidas en su crecimiento. Proliferan bien en medios de enriquecimiento altamente inhibidores como Selenito. (Forbes, A, Sahm & Weissfeld, 1998).

La *S. flexneri* es la principal causa de shigelosis endémica en los países subdesarrollados. *S. dysenteriae* 1 es la que produce una potente citotoxina (toxina shiga), que origina una enfermedad más severa, prolongada y fatal. Al mismo tiempo la resistencia antimicrobiana es más frecuente con esta especie. (CNDR/MINSA, 2004).





Las cepas de *Shigella dysenteriae* serotipo 1, es una de las cepas más importantes en Nicaragua por la frecuencia de su aparición, además difiere de otras cepas de *Shigella spp* por varias razones entre ellas: (CNDR/MINSA, 2004).

- Solo *S. dysenteriae* 1 causa epidemias de disenterías grandes y prolongadas.
- La infección con *S. dysenteriae* 1 causa enfermedad más grave y con mayor letalidad que las infecciones producidas por otros grupos de *Shigella spp*.
- La resistencia a los antimicrobianos se desarrolla más rápidamente y ocurre con mayor frecuencia cuando se trata de cepas de *S. dysenteriae* 1 que con otros grupos.

#### **4.3 Patogénesis causada por *Shigella spp***

El estudio de la patogenia asociada a la shigelosis ha representado todo un desafío para los investigadores, en virtud de que el agente etiológico no reproduce las clásicas lesiones humanas en los principales animales de laboratorio; sin embargo, los nuevos recursos de los infectólogos han permitido realizar diversos estudios *in vitro*, según los cuales el microorganismo se adhiere a las células HeLa –neoplásicas de cérvix humano, provoca que estas últimas lo engloben por fagocitosis no profesional y, a continuación, escapa del fagosoma para reproducirse en el citoplasma eucariota. Posteriormente, se disemina desde la primera célula invadida hasta las vecinas, sin entrar en contacto con el medio extracelular. (Noriega FR et al.,1999).

En este sentido, la infección de las células HeLa involucra a los siguientes eventos: (Noriega FR et al.,1999).





1. La adhesión bacteriana a la superficie de la célula “blanco”.
2. La entrada (internalización) del bacilo a la célula hospedera.
3. El escape bacteriano del fagosoma para acceder al citoplasma eucariote.
4. La reproducción intracelular del microorganismo.
5. El desplazamiento del bacilo, vía la polimerización de los filamentos de actina que permanecen unidos a él, hasta llegar a la membrana, en donde provoca la formación de protrusiones, como el evento transicional que antecede a la diseminación intercelular.
6. La lisis de las dos membranas celulares que delimitan el fagosoma de las células invadidas posteriormente, para que el invasor acceda al citoplasma de estas últimas.

#### **4.3.1 Adherencia, Invasión y Liberación Intracelular de *Shigella spp***

La adherencia del género a las células del huésped se efectúa a través de una proteína bacteriana (IpaD), que funge como “ligando” y cuyos receptores en la célula hospedera son las integrinas  $\beta 1$ . Éstas no sólo reciben a IpaD, sino también a otras moléculas bacterianas denominadas invasinas; la reacción entre éstas y las integrinas  $\beta 1$  desencadenan secuencialmente la reorganización de la actina y de esta manera, se forman los pseudópodos que engloban a *Shigella* y la “encierran” dentro de un fagosoma, aunque posteriormente el bacilo escapa del saco fagosómico y se multiplica en el citoplasma. (Noriega FR et al., 1999).

Es importante subrayar que los rearrreglos de actina también requieren de la participación de otras tres proteínas producidas por la célula hospedera: la cortactina, la GTPasa rho y la plastina;





la primera origina la polimerización de la actina, la segunda es indispensable para la elongación de los filamentos actínicos a partir del núcleo y la tercera, influye para que ocurra la agrupación de los segmentos elongados, aunque también resulta necesaria para estabilizar las proyecciones del citoesqueleto. (Noriega FR et al., 1999).

### **4.3.2 Factores de Patogenicidad**

#### **El plásmido de virulencia de *Shigella spp***

Este plásmido de aproximadamente 220 kb resulta esencial en el proceso de invasión; de hecho, las cepas que carecen de él son incapaces de promover su internalización e inclusive, cuando el plásmido es transferido experimentalmente a otras especies, se obtienen cepas transformadas capaces de ingresar a las células HeLa. A este respecto, el plásmido de virulencia es fundamental en las siguientes funciones bacterianas: Invasión del tejido “blanco”, vía la producción de adhesinas e invasinas; diseminación intercelular del invasor y traslado y secreción de diversos factores de virulencia. (Noriega FR et al., 1999).

La región plasmídica que determina la entrada bacteriana a la célula hospedadora codifica para la síntesis de las proteínas Ipa (Antígenos de Invasión Plasmídica), de su chaperón molecular IpgC y de un sistema de secreción de las Ipa, conocido como Mxi-Spa. (Noriega FR et al., 1999).





Las proteínas IpaA, IpaB, IpaC e IpaD resultan indispensables para la adherencia e invasión de *Shigella*; de hecho, la IpaD funge como la adhesina primaria, en tanto que IpaB e IpaC actúan como invasinas, sólo se les puede detectar en el medio extracelular después del contacto entre el invasor y la célula epitelial, y ambas conforman un complejo extracelular que promueve la internalización bacteriana. (Noriega FR et al., 1999).

Por lo que se refiere al Mxi-Spa, éste corresponde prácticamente a un clásico sistema de secreción proteica tipo III y manifiesta su relevante función hasta que han interactuado las superficies del bacilo y de la célula hospedera; además, incluye la participación de IpgC, para estabilizar a IpaB e impedir que ésta interactúe con IpaC en el citoplasma bacteriano, ya que ello impediría el traslado y la exportación de ambas moléculas. (Noriega FR et al., 1999).

#### **4.3.3 Diseminación Intracelular e Intercelular de *Shigella spp***

Dado que la reorganización de los filamentos actínicos responsables del englobamiento bacteriano continúa llevándose a cabo sobre la superficie de la vesícula fagocitaria que contiene a *Shigella*, es muy probable que mientras ésta escapa hacia el citoplasma hospedero adsorba otros fragmentos de actina y por ende, que en adelante adquiera el tipo de movilidad Ics, indispensable para lograr su diseminación hacia las células adyacentes; evidentemente, el Ics se basa en la polimerización de los filamentos de actina unidos al extremo de la bacteria, lo que crea una “cola” similar a la de un cometa, que confiere propulsión al invasor. (Noriega FR et al., 1999).





Una vez que *Shigella* alcanza la superficie de la célula infectada, ejerce presión sobre la membrana correspondiente y la “empuja” hasta formar una “protrusión” (protuberancia que se inserta en la célula hospedera vecina); posteriormente, ésta es englobada por la célula adyacente, con vista a generar un fagosoma de dos membranas -la más interna de las cuales proviene de la célula anterior. (Noriega FR et al., 1999).

Por último, el bacilo se reproduce en el citoplasma de la segunda célula invadida, gracias a que IpaB provoca la destrucción del fagosoma; en este sentido, cabe agregar que la actividad de IpaB es máxima a pH ácido –como el del interior del fagosoma- y que, una vez que la bacteria se encuentra libre en el citoplasma eucariota, es capaz de duplicar su población cada 40 minutos. (Noriega FR et al., 1999).

#### **4.3.4 Invasión de la mucosa del colon por *Shigella spp***

El evento de adhesión de las especies de *Shigella* en el colon humano, suele ser diferente con respecto a la adhesión de las células HeLa; en este aspecto, resalta el hecho de que las integrinas  $\beta 1$ , receptoras de las adhesinas Ipa, no se localizan en la región apical (luminal) de las células colónicas, sino en su porción basolateral (posterior o contraria a la apical). En tal contexto, no fue sino hasta que se infectaron monos -artificialmente-, cuando se logró detectar que las primeras lesiones aparecían en las placas de Peyer y que la bacteria ingresaba, vía las células M, hasta la región posterior de la mucosa. (Noriega FR et al., 1999).





*Shigella* desencadena su captación por las células M del colon, donde las bacterias son tomadas en el inicio por las células presentadoras de antígenos (macrófagos, células dendríticas) y posteriormente invaden los enterocitos, donde se liberan del fagosoma, se multiplican en citoplasma y diseminan a células adyacentes. El sistema de secreción tipo III (TTSS - siglas en inglés), un sistema de translocación de proteínas conservado en bacterias patógenas Gram negativas y que está codificado en un gran plásmido, se encarga a través de sus proteínas efectoras, de los procesos de citotoxicidad de macrófagos, la invasión a enterocitos y la modulación de la respuesta inmune celular. (Noriega FR et al., 1999).

Durante la multiplicación y diseminación bacteriana en la región basal de las células hospederas, el lipopolisacárido (LPS) y peptidoglicano son liberados e inducen la expresión de citocinas proinflamatorias y quimiocinas que activan la respuesta inmune innata. (Noriega FR et al., 1999).

Análogamente, el efecto lítico provocado por especies de *Shigella* pudo explicarse a través de los siguientes hallazgos: (Noriega FR et al., 1999).

- La infección de los macrófagos asociados a las placas de Peyer desencadena el proceso inflamatorio, induciendo una gran liberación de IL-1 $\beta$  madura y, secuencialmente, la de citocinas TNF- $\alpha$  e IL-8, las cuales originan el reclutamiento de numerosos PMNs.
- El crecimiento intracelular de *Shigella* provoca que cese la producción de proteínas y que ocurra la muerte celular.





- Cuando *Shigella* se multiplica dentro de la célula eucariota, disminuyen en ésta los niveles de ATP y se incrementan los de piruvato, fenómenos que indican graves alteraciones en el metabolismo celular, ubicados predominantemente en la mitocondria.
- *Shigella* induce apoptosis en los macrófagos.

#### 4.3.5 Toxinas producidas por *Shigella spp*

Es probable que la muerte celular sea consecuencia de las propiedades citotóxicas de la toxina Shiga, la cual interfiere en la síntesis proteica; la toxina posee múltiples efectos: es neurotóxica, citotóxica y enterotóxica. La toxina Shiga intacta, tiene un peso molecular (PM) de 70 Kda y cada una consta de una subunidad A con un PM de 32 Kda y cinco subunidades B con PM de 6.5 Kda. La subunidad A, se subdivide en A y A, la A es de 28 Kda, tiene actividad enzimática para la síntesis proteica e inactiva de manera irreversible a la subunidad ribosomal 60S. Las endotoxinas que se encuentran en la pared de las bacterias, en un LPS, producen necrosis focal del sitio que está colonizando la bacteria, de esta forma se producen los abscesos y después las úlceras del rectosigmoides (Castillo *et al.*, 1999); (Keusch y Bennish, 2003).

#### **Enterotoxina SenA:**

Según recientes observaciones clínicas, esta toxina también se encuentra codificada por el plásmido de virulencia de *Shigella*, y su aparente función en la Shigelosis es la de provocar las evacuaciones líquidas que anteceden a la diarrea disenteriforme. (Noriega FR et al., 1999).





### **Toxina de Shiga (Stx).**

Las principales características de la Stx -la toxina más potente de *Shigella*-, son: (Noriega FR et al., 1999).

- a. Los genes cromosómicos *Stx* codifican para su síntesis.
- b. Sólo es excretada al medio cuando el bacilo ha sido lisado.
- c. La Stx penetra en las células intestinales por endocitosis y les inhibe su síntesis proteica: en concreto, inactiva a la subunidad ribosómica 60S, incorporándose a los residuos N glicosídicos, con lo que genera una estructura en forma de asa que impide la unión del aminoacil-tRNA al ribosoma y, por ende, bloquea la elongación de la proteína en proceso de formación.

Además, la Stx exhibe las siguientes actividades tóxicas en algunos modelos experimentales: (Noriega FR et al., 1999).

- a. Actúa como enterotoxina en las asas ileales de conejo, provocando la pérdida de fluidos.
- b. Presenta actividad neurotóxica en ratones y conejos -a los cuales causa parálisis- y evidencia características de citotoxina al adicionarse a cultivos de células de mamífero.
- c. Induce apoptosis de las células epiteliales.

Cabe reiterar la relación directa de la Stx con el HUS, ya que la primera genera las lesiones de los vasos sanguíneos y otros tejidos afectados, lo cual explica ciertos cambios histológicos que aparecen en el colon de los humanos y primates que padecen de disentería. (Noriega FR et al., 1999).





El papel protagónico de la Stx en el HUS se ha deducido a partir de los siguientes hallazgos: (Noriega FR et al., 1999).

- Las cepas de *Shigella* que causan HUS manifiestan una notable producción de toxina Shiga, en comparación con los aislamientos ajenos a dicha enfermedad.
- Las cepas de *E. coli* causantes de HUS sintetizan una toxina casi idéntica a la Stx.
- Igual que los LPS bacterianos, la Stx también estimula la secreción de citocinas IL-1 y TNF $\alpha$ , las cuales actúan en forma sinérgica para matar células endoteliales humanas y generar el daño vascular clásico del HUS.

En la disentería bacilar grave, la mucosa del colon esta hiperémica y edematosa; el aumento de tamaño de los folículos linfoides da lugar a pequeños nódulos que hacen relieve. A lo largo de las 24 horas siguientes, aparece un exudado fibrinopurulento, inicialmente parcheado, que posteriormente recubre de manera difusa la mucosa y da lugar a una pseudomembrana de aspecto gris amarillento sucio. La reacción inflamatoria en la mucosa intestinal progresa, y la mucosa adquiere un aspecto blando y friable con aparición de ulceraciones superficiales e irregulares. Si la infección es grave, las zonas desnudadas pueden ser extensas, dejando sólo islotes de mucosa indemne. (Noriega FR et al., 1999).

Histológicamente, se observa infiltrado leucocitario de predominio mononuclear en el interior de la lámina propia, aunque la superficie de las úlceras está cubierta por una reacción neutrófila, supurativa, aguda, acompañada de congestión, edema, depósito de fibrina y trombosis de pequeños vasos. A medida que la enfermedad progresa, los bordes de las úlceras se transforman





en tejido de granulación activo. Cuando el proceso remite, este tejido de granulación rellena el defecto y las úlceras curan por regeneración de la mucosa. (Noriega FR et al., 1999).

#### **4.4 Patologías causada por *Shigella spp***

Las cuatro especies del género *Shigella spp*, son: *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii* y *S. sonnei* causan un gran espectro de infecciones que van desde una diarrea acuosa a la disentería fulminante. La señal distintiva de la infección por *Shigella* es la diarrea con sangre, acompañada de fiebre, dolor abdominal agudo, tenesmo (inflamación del intestino que causa sensación de necesidad de defecar aunque los intestinos estén vacíos, acompañado de dolor y cólico) vómitos y náuseas, frecuentemente conocida como “disentería”. Sin embargo, en casi la mitad de los casos, las infecciones por *Shigella spp* causan diarrea aguda no sanguinolenta que no se puede distinguir clínicamente de la diarrea causada por otros agentes patógenos entéricos. (CNDR/MINSA, 2004).

La gravedad de los síntomas parece estar relacionada con la dosis de ataque ya que el número de microorganismos ingeridos por la especie de *Shigella spp* para causar la infección intestinal es sustancialmente más bajo que el número de microorganismos ingeridos por las demás bacterias entéricas. (CNDR/MINSA, 2004).

La patogénesis de *Shigella spp*, es compleja, implica la interacción inicial del microorganismo con la célula huésped, invasión, multiplicación celular, lisis de la célula





infectada, producción de enterotoxinas y diseminación de célula a célula. Estos procesos dependen de la acción de múltiples genes que se encuentran en elementos cromosomales y plasmídicos. (A. Puerta & F.Mateo, 2005).

La disentería es una infección bacteriana aguda que afecta el intestino grueso y la porción distal del intestino delgado, se caracteriza por diarrea acompañada de fiebre, náuseas y algunas veces toxemia, vómitos, cólicos y tenesmo. (Ramírez et al., 2002).

En los casos típicos, las heces contienen sangre y moco (disentería), que es el resultado de la confluencia de micro abscesos causados por los microorganismos invasores; sin embargo, en muchos casos se presenta la diarrea acuosa como cuadro inicial. Las convulsiones pueden ser una complicación importante en los niños de corta edad; La bacteremia es rara y se dan casos leves y asintomáticos. (CNDR/MINSA, 2004).

La enfermedad suele ser de curso limitado y tener una duración de cuatro a siete días en promedio. La gravedad de la infección y la tasa de letalidad dependen del huésped (edad y estado de nutrición previo) y del serotipo, *Shigella dysenteriae* 1 (bacilo de Shiga) suele ocasionar cuadros y complicaciones graves, que incluyen megacolon tóxico y síndrome urémico-hemolítico; las tasas de letalidad han llegado al 20% entre los casos hospitalizados. (MINSA, 2010).





Por el contrario, muchas infecciones por *Shigella sonnei* tienen una evolución clínica breve y una tasa de letalidad casi insignificante, excepto en los huéspedes inmunodeficientes. (MINSA, 2010).

Algunas cepas de *Shigella flexneri* causan una artropatía reactiva o mejor conocido como síndrome de Reiter en personas predispuestas genéticamente, es decir, este síndrome en las personas que lo padecen se manifiesta por una reacción inflamatoria secundaria a una infección en algún sitio del cuerpo. Suele aparecer después de una infección de las vías urinarias, el tracto genital o digestivo. En estos casos, la infección se manifiesta después de ingerir alimentos contaminados con la bacteria, usualmente la especie *Shigella flexneri*. (González et al., 2008).

Los síntomas del Síndrome de Reiter, principalmente, incluyen: (González et al., 2008).

- Las articulaciones
- Los ojos
- El tracto urinario o genital

Aproximadamente de 1 a 4 semanas posteriores a la infección, una persona susceptible puede manifestar el síndrome de Reiter. Los médicos no saben por qué algunas personas manifiestan la enfermedad y otras no. La mayoría de los pacientes con la condición portan un factor genético específico llamado HLA-B27 (o el gen B27). (Pérez, Peláez & Prieto, 2009).





Como algunas variedades de *Escherichia coli*, *Campylobacter* y *Yersinia*; *Shigella spp* lleva a cabo su patogenicidad por la invasión de la mucosa intestinal. Una vez que el individuo ingiere el microorganismo, éste debe fijarse al intestino delgado (íleon o yeyuno) y multiplicarse; en esta etapa no se observa ningún fenómeno clínico y los síntomas solamente aparecen después de que la bacteria se traslada a través del epitelio, se multiplica formando acumulaciones bacilares en el interior de la pared, se presenta inflamación, la lesión progresa y desciende al colon dando lugar a fenómenos hemorrágicos, necrosis y a la formación de úlceras. (A. Merino et al., 2010).

La especie de *Shigella dysenteriae* 1 además de producir enzimas y exotoxinas, es productora de una neurotoxina que se asocia a una alta mortalidad tal y como ocurrió en la epidemia de Shigelosis por este serotipo en donde durante los primeros 4 años fueron afectadas más de medio millón y murieron 20,000 personas en toda Centroamérica. Esta neurotoxina actúa bloqueando las terminales nerviosas del SNC y produce hemorragias en la médula espinal que llevan a edema y compresión en los nervios y por último, parálisis y la muerte. (A. Merino et al., 2010).

#### **4.4.1 Los Microorganismos como agentes patológicos transmitidos por alimento**

Ciertos microorganismos patógenos son potencialmente transmisibles a través de los alimentos. En estos casos, las patologías que se producen suelen ser de carácter gastrointestinal, aunque pueden dar lugar a cuadros más extendidos en el organismo e incluso a septicemias. Las patologías asociadas a transmisión alimentaria pueden aparecer como casos aislados, cuando el mal procesamiento del alimento se ha producido a nivel particular; pero suelen asociarse a brotes epidémicos más o menos extendidos en el territorio. (Carreño et al., 2008); (Flores Diaz, 2010)





Las patologías asociadas a transmisión alimentaria pueden ser de dos tipos: infecciones alimentarias producidas por la ingestión de microorganismos o intoxicaciones alimentarias producidas como consecuencia de la ingestión de toxinas bacterianas producidas por microorganismos presentes en los alimentos. En ciertos casos, pueden producirse alergias alimentarias causadas por la presencia de microorganismos. (Prado, Solari & Carreño, 1999-2000).

En cualquier caso para que se produzca una intoxicación es necesario que el microorganismo haya producido: (Flores Diaz, 2010)

- Suficiente número para colonizar el intestino
- Suficiente número para intoxicar el intestino
- Cantidades de toxina significativas.

Los tipos de microorganismos patógenos con importancia en las infecciones alimentarias son bacterias y hongos en el caso de las intoxicaciones. (Flores Diaz, 2010)

La procedencia del microorganismo patógeno pueden ser de dos tipos: microorganismos endógenos presentes en el interior del alimento y microorganismos exógenos depositados en la superficie del alimento. (Frazier & Pascual, 1993)





Debido a la importancia en salud pública de las toxiinfecciones alimentarias, la labor del microbiólogo de alimentos se dirige en muchos casos, al control destinado a evitar el consumo de productos elaborados en condiciones deficientes y que por tanto sean potencialmente peligrosos. (Flores Diaz, 2010)

A la hora de realizar un análisis microbiológico de alimentos, tener en cuenta: (Adams, 1987)

- Las fuentes de contaminación del alimento
- Las rutas de infección del patógeno
- La resistencia de los patógenos a condiciones adversas
- Las necesidades de crecimiento de los patógenos
- Minimizar la contaminación y el crecimiento de los microorganismos
- Técnicas de detección y aislamiento
- Método de muestreo

Todo lo anterior obliga a la regulación legal de las características microbiológicas de cada alimento, lo que comprende la definición de cada alimento y las regulaciones sobre la tolerancia del número de microorganismos permisibles. (Reglamento Técnico Centroamericano, 2008) (Mendieta et al., 2006 - 2011).

Una de las causas de contaminación de alimentos es la contaminación biológica; incluye bacterias, parásitos y virus. El problema principal lo constituyen las bacterias por su capacidad de reproducirse sobre el alimento hasta cantidades que enferman a la persona que los consume o





hasta que producen toxinas que enferman. Su capacidad de reproducirse hace que en pocas horas se formen grupos o colonias de millones de bacterias que aun en esa cantidad resultan imposibles de ver a simple vista en el alimento. (Frazier & Pascual, 1993) (Cortés et al., 2010).

Este tipo de contaminación en alimentos, se puede dar por medio de las manos del hombre por contacto con alimentos contaminados o con superficies como mesas, recipientes, utensilios o equipos contaminados. También puede llegar a través de plagas que posan sus patas sobre el alimento o tienen contacto con él, como en el caso de las moscas, hormigas, cucarachas, ratas o también animales domésticos. (Frazier & Pascual, 1993); (Rivera, Rodríguez & López, 2009);

El criterio microbiológico define la aceptabilidad de un producto y/o ingrediente alimentario en base a la presencia o ausencia, o el número de microorganismos (y/o sus toxinas) por unidad de masa, volumen, área o lote. (Reglamento Técnico Centroamericano, 2008)

Contempla además los métodos de ensayo para la detección o cuantificación del o de los microorganismos, el plan que define el número de muestras del lote a ser analizadas; y el número de unidades de muestras defectuosas. Un criterio microbiológico forma parte de una norma técnica, ley o reglamento técnico para controlar alimentos y/o ingredientes alimentarios. (Reglamento Técnico Centroamericano, 2008); (Mendieta et al., 2006 - 2011).

#### **4.5 Métodos de Aislamiento e Identificación de *Shigella spp***

La utilización de los medios de cultivo se basa, en evidenciar la presencia o ausencia de





diferentes enzimas, que dirigen el metabolismo bacteriano a lo largo de diversas vías. Un conjunto determinado de enzimas o su carencia discrimina género y especies bacterianas. (Murray & P.R, 1995).

La forma usual de detectar una enzima se basa en el principio de que si está presente, utilizará un sustrato determinado que ha sido puesto alrededor en el medio de cultivo o en una prueba bioquímica determinada junto con indicadores que detectan la utilización del sustrato o la presencia de productos metabólicos específicos, estableciéndose así un perfil bioquímico para hacer la identificación de especie. Los productos terminales de la acción enzimática son detectados a través de indicadores de pH o por el apareamiento de pigmentos que hacen virar el color del medio. (Merk et al., 1994).

Algunos medios de cultivo iniciales contienen inhibidores cuyo propósito es el de favorecer el crecimiento de unos pocos géneros bacterianos. Este principio se conoce como selectividad y es bastante frecuente su empleo cuando las muestras tomadas provienen de partes del cuerpo donde el posible agente causal se acompaña de una microbiota amplia y abundante, como es el caso de la materia fecal. (Koneman et al., 1996).

El aislamiento e Identificación de *Shigella spp*, consta de dos métodos que se basan en sus características bioquímicas y antigénicas, describiéndose cuatro especies, todas ellas pueden causar disentería, aunque con diferente gravedad y el análisis se realiza a partir de Muestras





Fecales y Alimentos: (Koneman et al., 1996).

1. Siembra Directa en Placa en medios selectivos de Agar e Identificación Bioquímica (Pruebas Presuntivas para la identificación de *Shigella spp*).
2. Diagnóstico serológico.

Muestras:

1. Materia Fecal
2. Alimentos.

#### **4.5.1 Muestras de Materia Fecal Provenientes de Pacientes**

El laboratorio clínico rutinariamente busca las bacterias que más comúnmente causan diarreas, sin embargo, se requiere la colaboración del médico para asegurar la búsqueda precisa de un agente particular. Por consiguiente, se debe obtener una historia clínica completa, que incluya los síntomas del paciente, hora de iniciación, edad, historia de viajes, consumo de alimentos y tratamiento con antimicrobianos. (Bopp & Ajello, 1999).

Cada microorganismo posee mecanismos patogénicos únicos que causan una serie de síntomas, los cuales pueden ser clasificados inicialmente. Sin embargo, debe tenerse siempre presente que los microorganismos no se adhieren estrictamente a estas categorías. (Nair et al., 1992).





Al grupo de bacilos Gram negativos no fermentadores pertenecen bacterias taxonómicamente muy diversas, pero esta agrupación es útil para la clasificación en el diagnóstico clínico. Muchas de estas especies son incapaces de acidificar medios como el TSI y crecen considerablemente mejor en condiciones aeróbicas que en condiciones anaeróbicas. Incluso se encuentran algunas cepas que son incapaces de crecer anaeróbicamente. Adicionalmente, es importante considerar la resistencia natural a los antibióticos que muchas de estas bacterias presentan y la facilidad con la que adquieren resistencia a estos antibióticos. (Murray & P.R, 1995).

A las pruebas de escrutinio que se utilizan para su identificación como morfología microscópica, oxidasa, movilidad, producción de indol y acidificación de carbohidratos, se le han agregado pruebas como el crecimiento a temperatura ambiente y crecimiento en medios selectivos como el agar MacConkey. (OMS, 2001).

#### **4.5.2 Selección, Recolección y Transporte de muestra**

*Muestras aceptables* (Grasmick, Baron, Peterson, & Finegold, 1994)

Los principales criterios de aceptación de muestras para coprocultivo incluyen:

- Hisopos rectales de niños o adultos con diarrea aguda.
- Muestras no contaminadas con orina.
- Seleccionar las porciones que contengan pus, sangre o moco.
- Heces formadas en estudios epidemiológicos.





- Recibir 2 o 3 muestras de días separados incrementa la probabilidad de aislar el patógeno.
- Muestras frescas de 1-2 horas o preservadas como se describe más adelante.

#### ***Muestras inadmisibles*** (Grasmick, Baron, Peterson, & Finegold, 1994)

Las muestras que no deben aceptarse, se rigen por los siguientes criterios:

- Muestras de más de 2 horas no preservadas.
- Hisopos rectales secos.
- Varias muestras en un mismo día.
- Muestras sin datos del paciente, hora y procedencia.

#### ***Recolección de la muestra*** (Grasmick, Baron, Peterson, & Finegold, 1994)

Para la recolección de las muestras se deben de seguir las siguientes recomendaciones:

- Frascos plásticos con tapa de rosca de cierre hermético.
- Hisopos en tubos con tapa.

#### ***Preservación y Transporte***

Las muestras fecales que no se pueden inocular directamente en los medios de cultivo se pueden preservar a 4 – 8 °C en:

- Buffer salino de glicerol (partes iguales de buffer salino de fosfatos 0.033 M pH 7.0 y glicerol) recomendado para *Salmonella spp.* y *Shigella spp.*
- Medio de Transporte Cary Blair.





### 4.6.3 Medios de Enriquecimiento

Los medios de enriquecimiento se utilizan para aumentar la probabilidad de crecimiento de ciertas especies bacterianas mientras se inhiben microorganismos no deseados. Son particularmente útiles en la recuperación de *Salmonella spp* de heces de portadores y de pacientes con infecciones leves por *Shigella spp*, donde los números pueden ser tan bajos como 200 bacterias/g de heces. (Barón, Peterson, J & Finegold, 1994).

El principio de trabajo de los medios de enriquecimiento es el mantenimiento en fase log de diferentes comensales fecales debido a los inhibidores químicos del caldo (desoxicolato, selenito, tiosulfato). *Salmonella spp* y *Shigella spp* son menos inhibidas y entran en fase log (Periodo de crecimiento más rápido en que las células se dividen a velocidad constante, y como resultado hay una relación entre el número de células y el tiempo) más rápidamente, lo que aumenta su número. No obstante, con el tiempo la inhibición de coliformes disminuye, por lo que se recomienda subcultivar dentro de las 8 horas de inoculado el caldo para evitar sobre crecimiento. (Barón, Peterson, J & Finegold, 1994).

Las mejores oportunidades de aislar a las *Shigellas* por medio del coprocultivo se dan en la etapa inicial o fase aguda de la enfermedad cuando este patógeno está en mayor número en las heces y antes de administrar cualquier antibiótico. Deben ser heces recién evacuadas o que tengan moco. La inmunidad es específica del serotipo, una vez sufrida la infección no es probable que la persona se infecte con el mismo serotipo de *Shigella* por varios años. (A. Merino





et al., 2010).

No existe un medio de enriquecimiento para *Shigella spp* que proporcione siempre una mayor tasa de recuperación que la siembra directa en placa. Para un aislamiento óptimo de este microorganismo, deben utilizarse dos medios diferentes: uno de siembra para propósitos generales de baja selectividad, como el AMC y otro de agar más selectivo, como es el agar DXL. El ADC y el agar EH son opciones adecuadas al agar DXL como medios de moderada a alta selectividad. (Bopp, Wells & Dowell, 2002-2004).

#### **4.6 Medios de Cultivos empleados para el Aislamiento e Identificación de *Shigella spp* provenientes de una Muestra de Materia Fecal y Alimento**

Los medios más comúnmente recomendados, de acuerdo con las posibilidades del laboratorio, para aislamientos de *Shigella spp* son los siguientes: (Bopp, Wells & Dowell, 2002-2004).

- Medio de soporte: agar sangre (agar tripticasa-soya con 5% de sangre).
- Medio diferencial: agar MacConkey o agar EMB (eosina-azul de metileno de Levine).
- Moderadamente selectivo: agar Hektoen, Agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato (XLD), agar Salmonella-Shigella (SS).
- Altamente selectivo: Agar Verde Brillante y Agar Bismuto Sulfito.

Con el fin de aumentar la probabilidad de aislar alguno de estos agentes se pueden utilizar los siguientes caldos:





- *Caldo Gram – Negativo (GN):*

La muestra se inocula en el caldo, se incuba a 35°C estrictamente por 4 a 6 horas y se subcultiva a medios diferenciales y selectivos. Este caldo fue desarrollado para el aislamiento y cultivo de microorganismos Gram-negativos. Está recomendado para la detección de *Salmonella spp* y *Shigella spp* a partir de muestras clínicas. Contiene desoxicolato de sodio, citrato, manitol, triptosa como fuente de nutrientes esenciales para el crecimiento, nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos. El Manitol y la Dextrosa son los carbohidratos fermentables que aportan carbono y energía. El Manitol está en concentración más alta lo que favorece el crecimiento de las especies fermentadoras de manitol como *Salmonella spp* y *Shigella spp* y limita el crecimiento de *Proteus* y otras bacterias fermentadoras de dextrosa. El Desoxicolato sódico y el Citrato sódico inhiben el crecimiento de organismos Gram-positivos. El buffer es la mezcla del Fosfato monopotásico y Dipotásico. (Murray P. R, 1995).

- *Caldo Selenito F y caldo Tetrionato:*

Son medios que actúan inhibiendo el crecimiento de la mayoría de Gram negativos, con lo cual favorece el crecimiento de otras bacterias, principalmente especies *Shigella* y *Salmonella*. (Murray P. R, 1995).

Las especies de *Shigella spp* de pacientes con infecciones leves donde el número de microorganismos puede estar por debajo de 200 por gramo de heces, se pueden recuperar del caldo Selenito F y Tetrionato si se subcultiva dentro de 6 a 12 horas de incubación. (López et al., 2004).





Los resultados de Aislamientos de *Shigella spp* y *Salmonella spp*, se evidencia por una turbidez del medio. (Murray P. R., 1995).

#### **4.6.1 Fundamentos para el Aislamiento e Identificación de *Shigella spp* en Alimentos y Materia Fecal.**

La detección de *Shigella spp* en Alimentos y Materia Fecal, describe un esquema general que consiste de cuatro pasos básicos:

- 1. Pre enriquecimiento:** es el paso en donde la muestra es enriquecida en un medio nutritivo no selectivo, que permite restaurar las células de *Shigella* dañadas, logrando de esta manera una condición fisiológica estable. (Murray & P. R, 1995).
- 2. Enriquecimiento selectivo:** se logra a partir de un medio de cultivo que conjunte dos condiciones, por un lado debe incrementar las poblaciones de *Shigella* y por otro inhibir otros microorganismos presentes en la muestra permitiendo el reconocimiento visual característico de colonias sospechosas de esta. (Murray & P. R , 1995).
- 3. Identificación bioquímica:** este paso permite la identificación genérica de los cultivos de *Shigella spp* y la eliminación de cultivos sospechosos falsos. (Murray & P. R , 1995)
- 4. Serotipificación:** es una técnica inmunológica (antígeno-anticuerpo) que permite la identificación específica de un microorganismo. (Murray & P. R , 1995).





#### 4.6.2 Fundamentos de los Medios de Cultivos

##### ● **Agar Salmonella Shigella (AGAR SS):**

Es un medio selectivo y diferencial para el aislamiento de algunos bacilos entéricos, especialmente los que pertenecen a los géneros *Salmonella spp* y *Shigella spp*. (López et al., 2004).

##### **Composición:**

Nutriente: Peptonas.

Sustratos: Lactosa, Tiosulfato de Na, Citrato de Na, Citrato de NH<sub>4</sub> y Hierro III.

Inhibidor: Verde brillante y bilis de buey

Indicador de pH: Rojo Neutro

Temperatura de incubación: 35 - 37°C

Tiempo de incubación: 18-24 horas

##### **Fundamento bioquímico de la bacteria:**

Las *shigellas* carecen de las enzimas galactósido-permeasa y galactosidasa, por lo tanto no tienen la capacidad de fermentar la lactosa y aparecen como colonias transparentes en el medio, convexas y de 2 a 4 mm de diámetro luego de 24 horas de incubación. Es recomendable usar este medio en conjunto con otro medio menos inhibitorio como Agar MacConkey debido a que Salmonella Shigella Agar, inhibe el crecimiento de algunas cepas de *Shigella dysenteriae* serotipo 1. (López et al., 2004).



**Resultado:**

Crecimiento de colonias incoloras, transparentes, convexas y de 2-4 mm de diámetro.

**● AGAR Mac CONKEY:****Fundamento del medio de cultivo:**

Es un medio selectivo y diferencial que se emplea para discriminar las bacterias Gram negativas en fermentadoras y no fermentadoras de la lactosa. Las sales biliares y el cristal violeta inhiben a los Gram positivos. (López et al., 2004).

**Composición:**

Nutriente: Peptona

Sustrato: Lactosa

Inhibidores: Sales biliares y cristal violeta

Amortiguador: Cloruro de Na

Indicador de pH: Rojo neutro

Temperatura de incubación: 35-37°C

Tiempo de incubación: 18-24 horas

**Fundamentos bioquímicos de la bacteria:**

Las *shigellas* carecen de las enzimas galactósido-permeasa y galactosidasa, por lo que no tienen la capacidad de fermentar la lactosa y las colonias aparecen incoloras o transparentes, convexas





y pequeñas de 2 a 4 mm de diámetro después de 24 horas de incubación. (López et al., 2004).

**Resultado:**

Crecimiento de colonias incoloras, transparentes, convexas y de 2-4 mm de diámetro.

**● PRUEBA EN TSI (TRIPLE AZÚCAR HIERRO O TRIPLE SUGAR IRON POR SUS SIGLAS EN INGLÉS):****Fundamento de la prueba:**

Este medio se utiliza para determinar la capacidad de los bacilos Gram negativos para fermentar lactosa, sacarosa y glucosa, así como para determinar su capacidad de producir H<sub>2</sub>S (ácido sulfhídrico). (López et al., 2004).

**Fundamentos bioquímicos de la bacteria:**

Todas las *Shigellas* poseen la enzima glucosa 6 fosfatos deshidrogenasa, por lo que fermentan la glucosa. No poseen la enzima invertasa, por lo tanto no pueden fermentar la sacarosa. Algunas variedades de *Shigella flexneri* 6 y *Shigella boydii* 14 que poseen la enzima deshidrogenasa fórmica producen muy poca cantidad de gas a partir de la glucosa, en el punto de inoculación. *Shigella sonnei* posee la enzima galactosidasa y por lo tanto es la única especie del género *Shigella* que puede fermentar lentamente la lactosa en 2 a 3 días. (López et al., 2004).

**Resultado:**

*Shigella spp*: K/A (rojo / amarillo).





– **Fermentación de los Carbohidratos:**

El medio contiene dos cámaras de reacción, en la parte inclinada se fermenta la sacarosa y la lactosa y en la parte profunda se fermenta la glucosa. Se puede fermentar los tres carbohidratos o uno de ellos depende de la bacteria que se estudie. (López et al., 2004).

– **Producción de Gas:**

El primer paso es la fermentación de la glucosa, uno de cuyos productos terminales es el ácido fórmico. Si la bacteria tiene la enzima deshidrogenasa fórmica, el ácido fórmico es descompuesto en CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>. (López et al., 2004).

**Composición del medio:**

Nutrientes: Peptona

Sustratos: Glucosa, Lactosa, Sacarosa, Sulfato Ferroso, Tiosulfato de Sodio

Indicador de pH: Rojo fenol

Temperatura de Incubación: 35-37°C

Tiempo de Incubación: 18-24 horas

● **PRUEBA EN LIA (LISINA HIERRO AGAR O LISINE IRON AGAR POR SUS SIGLAS EN INGLÉS):**

**Fundamento de la prueba:**





Es un medio para detectar enzimas que descarboxilan o desaminan la lisina en bacilos Gram negativos. Adicionalmente detecta enzimas que producen sulfuro de hidrógeno y gas proveniente de la glucosa. (López et al., 2004).

#### **Prueba de Descarboxilación de la Lisina:**

Si la bacteria posee la enzima descarboxilasa, la Descarboxilación de la lisina produce cadaverina, un producto terminal alcalino que acentúa el color violeta del medio. Un requerimiento previo de la Descarboxilación es un pH ácido, el cual se logra con la fermentación de la glucosa. Esta reacción se lleva a cabo en anaerobiosis, por lo que se observa en la parte profunda del medio. (López et al., 2004).

#### **Prueba de Desaminación de la Lisina:**

La desaminasa de la lisina actúa solo en ambiente de aerobiosis por lo que se verá en la parte inclinada. La Desaminación de la lisina termina en productos cetoácidos que en combinación con el  $Fe^{+++}$ , (proveniente del citrato de amonio férrico) hacen que la molécula combinada se observe de color rojo intenso. El indicador de pH no interviene en este caso. Por esta razón, la lectura de esta reacción no se abrevia con los símbolos de ácido (A) sino como R (rojo). (López et al., 2004).

No existen enterobacterias que posean las dos enzimas (descarboxilasa y desaminasa de la lisina) por lo que sólo se tiene que observar o una de ambas reacciones, o la ausencia de ambas. Cuando no hay desaminasa ni descarboxilasa, en la parte inclinada se observará una





alcalinización del medio por crecimiento y muerte bacteriana, la cual hará que esta parte se observe de color violeta (K) y en la parte profunda, acidificación por los productos terminales de la fermentación. (López et al., 2004).

Prueba de la glucosa: En este caso, la parte profunda se observará de color amarillo (A).

### **Fundamento bioquímico de la bacteria:**

Las *shigellas* no poseen la enzima lisina descarboxilasa, por lo tanto no descarboxilan la lisina. Tampoco poseen la enzima lisina desaminasa por lo que no desaminan la lisina. Algunas variedades de *Shigella flexneri* 6 y *Shigella boydii* 14 poseen la enzima deshidrogenasa fórmica, por eso producen muy poca cantidad de gas a partir de la glucosa, en el punto de inoculación. (López et al., 2004).

### **Composición:**

Nutriente: Peptona

Sustratos: Lisina, glucosa, citrato de amonio férrico, tiosulfato de sodio

Indicador de pH: Rojo fenol

Temperatura de Incubación: 35-37°C

Tiempo de incubación: 18-24 horas

### **Resultado:**

*Shigella spp*: K/A (violeta / amarillo)





## ● PRUEBA DE MIO (MOVILIDAD, INDOL, ORNITINA):

### • Prueba de Movilidad:

#### **Fundamento de la prueba:**

Es un medio que se utiliza para determinar la presencia de flagelos, así como las enzimas descarboxilasa de ornitina y triptofanasa. Por lo tanto, sirve para determinar la movilidad, descarboxilación de la ornitina y producción de indol. (López et al., 2004).

#### **Fundamentos bioquímicos de la bacteria:**

Las *shigellas* carecen de flagelos, por lo tanto son inmóviles.

#### **Resultado:**

Movilidad negativa: crecimiento exclusivamente a lo largo de la punción.

### • Prueba de producción de Indol:

#### **Fundamento de la prueba:**

Si la bacteria posee la enzima triptofanasa, el aminoácido triptófano será degradado en varios productos entre los cuales está el indol, el cual se hace visible al agregarle el reactivo de Kovac (p- dimetilaminobenzaldehído) o Erlich con un color rosado intenso. Sin la presencia de la enzima y ausencia del indol, el reactivo se ve transparente. (López et al., 2004).

#### **Fundamentos bioquímicos de la bacteria:**

Las *shigellas* carecen de la enzima triptofanasa, por lo tanto, no producen indol como





producto terminal. Algunas cepas de las especies *dysenteriae*, *flexneri* y *boydii* poseen la enzima, por lo que pueden producirlo. (López et al., 2004).

**Resultado:**

*Shigella spp*: Producción de indol variable: ausencia o presencia de anillo rojo al agregar el reactivo de Kovac.

*Shigella sonnei*: Producción de indol negativo: ausencia de anillo rojo con reactivo de Kovac.

- **Prueba de Descarboxilación de Ornitina:**

**Fundamento de la prueba:**

Detecta la presencia de la enzima descarboxilasa de la ornitina, que de estar presente desdobla la ornitina en putrescina, un producto con pH alcalino, lo que hace intensificar el color violeta del medio. (López et al., 2004).

**Fundamentos bioquímicos de la bacteria:**

A excepción de *Shigella sonnei* que posee la enzima descarboxilasa y por lo tanto descarboxila la ornitina, las especies de *Shigella dysenteriae*, *S. flexneri* *S. boydii*, no poseen esta enzima, por lo que no descarboxilan la ornitina. (López et al., 2004).

**Resultado:**

*Shigella dysenteriae*, *S. flexneri* y *S. boydii*: Descarboxilación de la ornitina negativa: Hay viraje de color del violeta al amarillo. La reacción es más intensa en el fondo del tubo.





*Shigella sonnei*: Descarboxilación de la ornitina positiva: No hay viraje de color y se observa violeta en todo el medio.

- **Composición MIO:**

Nutrientes: Peptona

Sustratos: Ornitina, glucosa y triptófano

Indicador de pH: Púrpura de bromocresol

Temperatura de Incubación: 35-37oC

Tiempo de Incubación: 18-24 horas

- **PRUEBA DE CRECIMIENTO EN CITRATO DE SIMMONS:**

**Fundamento de la prueba:**

Determina la capacidad de un microorganismo de utilizar el citrato como única fuente de carbono. (López et al., 2004).

**Fundamentos bioquímicos de la bacteria:**

Las *shigellas* no utilizan el citrato como única fuente de carbono. (López et al., 2004).

**Composición:**

Sustrato: Citrato de Na, fosfato de amonio monobásico.

Amortiguadores: Fosfato de potasio dibásico, cloruro de sodio, sulfato de magnesio.





Indicador de pH: Azul de bromotimol

Temperatura de incubación: 35-37°C

Tiempo de Incubación: 24 – 48 horas. Máximo 4 días

### **Resultado:**

Utilización del citrato: Negativa. No hay viraje de color ni crecimiento en la superficie del medio en 4 días. El medio se observa de color verde.

*Shigella flexneri*: Resultado: Crecimiento en citrato negativo. No hay viraje de color ni crecimiento en la superficie del medio en 4 días. El medio se observa de color verde.

### ● **Prueba de Hidrólisis de la Urea**

#### **Fundamento de la prueba:**

Detecta la presencia de la enzima ureasa. Cuando la bacteria tiene la enzima, la urea es desdoblada a amonio y CO<sub>2</sub>. El amonio alcaliniza el medio haciendo virar el indicador al rosado intenso. (López et al., 2004).

#### **Fundamentos bioquímicos de la bacteria:**

Todas las especies de *Shigella* carecen de la enzima ureasa por lo tanto no hidrolizan la urea. (López et al., 2004).



**Composición:**

Nutriente: Peptona

Sustratos: Urea

Amortiguadores: Cloruro de sodio, fosfato de potasio monobásico

Indicador de pH: Rojo fenol

Temperatura de incubación: 35-37°C

Tiempo de incubación: 18-24 horas. Máximo 4 días

**Resultado:**

Hidrólisis de la urea negativa: no hay viraje de color del medio. Se observa amarillo pálido.

**● PRUEBA DE ONPG (ORTO-NITROFENIL - $\beta$ -D-GALACTOPIRANÓSIDO):****Fundamento de la prueba:**

Las bacterias fermentadoras de lactosa poseen tanto lactosa permeasa como  $\beta$ -galactosidasa, dos enzimas necesarias para la producción de ácido en la prueba de fermentación de la lactosa. La permeasa es necesaria para que la molécula de lactosa pueda penetrar en el interior de la célula bacteriana, donde la  $\beta$ -galactosidasa puede degradar el enlace galactósido, produciendo glucosa y galactosa. (López et al., 2004).

Las bacterias no fermentadoras de lactosa, carecen de ambas enzimas y son incapaces de producir ácido a partir de la lactosa. Las bacterias fermentadoras lentas de lactosa carecen de la





enzima  $\beta$ -galactósido-permeasa o su actividad es deficiente; pero poseen la enzima  $\beta$ -galactosidasa y dan reacción de ONPG positiva. (López et al., 2004).

La prueba ONPG detecta la enzima  $\beta$ -galactosidasa mucho más rápido que la misma prueba de fermentación de lactosa. Y es útil para la identificación de los fermentadores tardíos de la lactosa deficientes en  $\beta$ -galactósido-permeasa. La o-nitrofenil- $\beta$ -D- galactopiranosido (ONPG) es similar a la lactosa, excepto porque la glucosa ha sido sustituida por un grupo orto-nitrofenilo. (López et al., 2004).

El ONPG permeabiliza la pared bacteriana más rápidamente que la lactosa y bajo la acción de la  $\beta$ -galactosidasa (que si poseen los fermentadores lentos de lactosa), se hidroliza a galactosa y o-nitrofenol. (López et al., 2004).

El o-nitrofenol es un compuesto que no tiene color cuando está unido al D-galactopiranosido, pero es amarillo en su forma libre (no unido), lo que permite la visualización de la hidrólisis. (López et al., 2004).

### **Composición:**

Sustrato: O-nitrofenil- $\beta$ -galactopiranosido.

Temperatura de incubación: 35-37°C.

Tiempo de incubación: 18-24 horas.



**Fundamentos bioquímicos de la bacteria:**

A excepción de *S. sonnei*, única especie que posee la enzima  $\beta$ -galactosidasa y que por lo tanto es ONPG-positiva y fermentadora lenta de la lactosa, las demás especies de *Shigella spp* no poseen la enzima  $\beta$ -galactosidasa, por lo que son ONPG negativas. (López et al., 2004).

**Resultado:**

*S. dysenteriae*, *S. flexneri* y *S. boydii*. ONPG negativa: No hay viraje de color en la suspensión.

*Shigella sonnei*: ONPG positiva: Hay viraje de color al amarillo en la suspensión.

**● PRUEBA DE FERMENTACIÓN DE MUCATO:****Fundamento de la prueba:**

El mucato es una sal del ácido múxico que es utilizado por algunas bacterias como única fuente de carbono. A diferencia del citrato y malonato, los productos terminales acidifican el medio, lo cual hace virar el indicador de pH del azul al amarillo. (López et al., 2004).

**Fundamentos bioquímicos de la bacteria:**

Las *shigellas* no utilizan el mucato. Esta prueba bioquímica es útil para diferenciar el género *Shigella* de *Escherichia coli* inactiva. (López et al., 2004).



**Resultado:**

*Shigella spp*: Utilización del mucato negativa: no hay viraje de color del medio en 2 días. El caldo se observa de color azul.

**● Agar Desoxicolato Xilosa Lisina (DXL):**

El agar desoxicolato xilosa lisina (DXL) es un medio selectivo diferencial adecuado para el aislamiento de *Shigella spp* y *Salmonella spp* de muestras de heces y alimentos. La diferenciación de estas dos especies de bacterias no patógenas se complementa por la fermentación de la xilosa y la lactosa, la Descarboxilación de la lisina y la producción de sulfhídrico. (López et al., 2004).

Las colonias de *Shigella spp* en agar DXL son lisas, de un rosado transparente o rojas, con 1–2 mm de diámetro. Las colonias de *S. dysenteriae* 1 en DXL son frecuentemente muy diminutas, distintas a otras especies de *Shigella spp*. Los coliformes aparecen amarillos. Las colonias de *Salmonella* son usualmente rojas con el centro negro, pero también pueden ser amarillas con el centro negro. (López et al., 2004).

**Fundamento**

La degradación de los carbohidratos presentes en el medio (xilosa, lactosa y sacarosa) genera la producción de ácido haciendo virar el indicador (rojo fenol) de rojo a amarillo. En este medio se incorpora la xilosa porque es prácticamente fermentada por todas las enterobacterias con excepción de los microorganismos pertenecientes al género *Shigella*. (López et al., 2004).





La lisina se incluye para aumentar la diferenciación de los microorganismos pertenecientes al género *Salmonella*, ya que sin la lisina estos microorganismos rápidamente fermentan la xilosa produciendo la acidificación del medio y no se pueden diferenciar de otras especies no patógenas. Como la cantidad del carbohidrato xilosa es limitada, una vez que estos microorganismos lo consumen, comienzan a utilizar la lisina lo cual produce la alcalinización del medio; este hecho se evidencia porque el rojo fenol nuevamente vira a un color rojo. En el caso de los coliformes lisina positiva, para prevenir la alcalización del medio por la utilización de la lisina, se incorpora en el medio un exceso de lactosa y sacarosa. (López et al., 2004).

El medio también tiene la capacidad de detectar la producción de H<sub>2</sub>S, a través del sistema indicador tiosulfato de sodio y citrato férrico amonio. Cuando el microorganismo produce H<sub>2</sub>S se observan colonias con el centro negro. Los microorganismos no patógenos productores de H<sub>2</sub>S no descarboxilan la lisina; cuando están presentes estos microorganismos la reacción ácida producida por la utilización de los carbohidratos previene el ennegrecimiento de las colonias. El desoxicolato de sodio es utilizado como un inhibidor de los microorganismos Gram positivos. (López et al., 2004).

Las colonias sospechosas de *Shigella spp* sobre el agar XLD son transparentes y parecen rojas por el color del medio. Este género bacteriano al no fermentar la xilosa, la lactosa, ni la sacarosa, no da lugar a que el rojo fenol vire a amarillo. Como estos microorganismos tampoco tienen la capacidad de alcalinizar el medio por la Descarboxilación de la lisina, no se produce color rojo púrpura alrededor de las colonias. (López et al., 2004).





### 4.6.3 Serotipificación:

#### **Fundamento de la prueba:**

Es necesario hacer una prueba para identificar los aislamientos de *Shigella*. Esta prueba se realiza normalmente por aglutinación en lámina con sueros polivalentes de antígeno de grupo somático (O), seguido, en algunos casos, de la prueba con antisueros monovalentes para la identificación serotípica específica. El antisuero monovalente de *S. dysenteriae* 1 se requiere para la identificación de este serotipo, que es la causa más frecuente de disentería epidémica grave. (Bopp, Wells & Dowell, 2002-2004).

La presencia de antígenos específicos en la cápsula o pared celular es utilizada como base para la caracterización serológica de algunos géneros y especies bacterianas. En algunos casos el antígeno está ubicado en el LPS de la pared y están conformados por carbohidratos. Pequeñas variaciones de los azúcares dan como resultado variaciones en la especificidad del antígeno. En algunos casos el antígeno está ubicado en la cápsula. En ambos casos y cuando la naturaleza del antígeno es altamente específica, es utilizada para clasificar a la bacteria en serogrupos, serotipos o tipos. (Bopp, Wells & Dowell, 2002-2004).

#### **Fundamentos antigénicos de la bacteria *Shigella*:**

El antígeno somático O constituye la parte más externa de los lipopolisacáridos de la pared celular de las *Shigella*. Diferentes subunidades de polisacáridos repetidas le confieren especificidad de grupo que son la base para la determinación de la especie: A (*dysenteriae*), B (*flexneri*), C (*boydii*), D (*sonnei*). (Bopp, Wells & Dowell, 2002-2004).





### **Caracterización de los antígenos somáticos O:**

Los aislamientos con características bioquímicas típicas de *Shigella* deben someterse a identificación serológica del antígeno somático O por aglutinación en lámina con antisueros para cada especie o grupo. Para ello debe contarse con un cultivo puro de 24 horas de incubación de la cepa en estudio y es necesario verificar que se encuentre en forma lisa, es decir que es aglutinable. (Bopp, Wells & Dowell, 2002-2004).

Para ello se procede de la siguiente forma: (Bopp, Wells & Dowell, 2002-2004).

1. Sobre una lámina de vidrio limpia, colocar una gota de solución salina al 2%.
2. Con un palillo de madera estéril tomar un inóculo de la cepa, de manera que estén en igual cantidad al mezclarse, el inóculo con la solución salina. Las pruebas serológicas no deben hacerse con crecimiento de medios selectivos como agar MacConkey o agar DXL, porque pueden dar resultados serológicos falsos negativos.
3. Mezclar de forma homogénea.
4. Rotar manualmente la lámina en forma circular y despacio por un tiempo máximo de un minuto.
5. Observar si se producen o no grumos (fuerte aglutinación). Examine la suspensión de salina cuidadosamente para estar seguro de su uniformidad y de que no muestra grumos causados por el auto aglutinación. Si hay auto aglutinación, el cultivo es “rugoso” y no sirve para la Serotipificación.



**Resultados:**

Si no se producen grumos (cepa lisa o aglutinable), puede proceder a la aglutinación con los antisueros somáticos. Si se producen fuertes grumos con la solución salina al 2% indica que se trata de una cepa rugosa, por lo tanto debe seguir los siguientes pasos para eliminar el antígeno de cubierta que está enmascarando al antígeno O e inhibiendo la aglutinación. (Bopp, Wells & Dowell, 2002-2004).

**Procedimiento para la eliminación del antígeno de cubierta:** (Bopp, Wells & Dowell, 2002-2004).

1. Hacer una suspensión de la bacteria en solución salina 0.85%. La suspensión debe ser bastante densa y homogénea, sin partículas flotantes.
2. Calentar en baño María a 100oC de 15 a 30 minutos.
3. Dejar enfriar la suspensión.
4. Reintentar la aglutinación.

**Resultados:**

Si no se producen grumos (cepa lisa o aglutinable), puede proceder a la aglutinación con los antisueros somáticos.

Si aún después de este tratamiento, persiste la aglutinación con solución salina al 2%, debe enviar la cepa al laboratorio de referencia CNDR para su debida confirmación y Serotipificación.





**Procedimiento para la Serotipificación somática monovalente (aglutinación de cepas de *Shigella* en forma lisa):** (Bopp, Wells & Dowell, 2002-2004).

Si la prueba con solución salina al 2% no aglutinó (cepa lisa), debe realizar la Serotipificación usando los antisueros somáticos para cada especie, en el siguiente orden:

Antisuero para serogrupo B de *Shigella flexneri*

Antisuero para serogrupo D de *Shigella sonnei*

Antisuero para serogrupo C de *Shigella boydii*

Antisuero para serogrupo A de *Shigella dysenteriae*

1. Sobre una lámina de vidrio limpia, colocar una gota de antisuero para serogrupo B de *Shigella flexneri*.
2. Con un palillo de madera estéril, tomar un inóculo de la cepa pura, de manera que estén en igual cantidad al mezclarse, el inóculo con el antisuero.
3. Mezclar de forma homogénea.
4. Rotar manualmente la lámina en forma circular y despacio por un tiempo máximo de un minuto para favorecer la reacción antígeno-anticuerpo.
5. Observar si se producen o no grumos (fuerte aglutinación).
6. Si hay aglutinación, anote los resultados de la especie. Si no hay aglutinación proceda a realizar el mismo procedimiento con el antisuero D. Proceda con el resto de los antisueros de la misma manera en caso de que las aglutinaciones con los antisueros D y C sean negativas.



**Resultados e Informe:**

Si aglutina con B informe: *Shigella flexneri*

Si aglutina con D informe: *Shigella sonnei*

Si aglutina con C informe: *Shigella boydii*

Si aglutina con A informe: *Shigella dysenteriae*

Nota: La identificación completa del serotipo se hace con fines epidemiológicos, por lo que corresponde al CNDR hacer estos procedimientos y por lo tanto, todas las cepas aisladas deben ser enviadas a este Centro para su debida confirmación y Serotipificación. (López et al., 2004).

**4.7 Mecanismos de Resistencia de *Shigella spp* a los diferentes Antimicrobianos.**

Las bacterias son capaces de desarrollar mecanismos de resistencia, sobre todo en especies que causan infecciones fundamentalmente extrahospitalarias. La determinación y vigilancia de los patrones de resistencia a los diferentes antimicrobianos en una región o país, permite definir la existencia de zonas epidémicas con cepas multirresistentes. Además, la detección de cambios entre las mismas, facilita el control de la política de antibióticos de la región estudiada. (Shieng et al., 2001); (Milver et al., 2002).

Las sulfamidas estuvieron disponibles comercialmente desde 1930 y a partir de ese momento fueron eficaces en la terapia de la disentería bacilar y otras infecciones. Sin embargo, debido a su eficacia, se utilizó frecuentemente a partir de los años 40 y en este período de tiempo, el 90% de los aislamientos de *Shigella spp* comenzaron a presentar resistencia. (Tenover & Mc Gowan,





1996).

La terapia contra la Shigelosis cambió al surgir otros antimicrobianos como: cloranfenicol, tetraciclina, estreptomina, que comenzaron a comercializarse en 1950. En pocos años el género se tornó resistente a uno o más antimicrobianos. A mediados de la década de los 60, la tercera parte de los aislamientos en Japón mostró una resistencia cuatro veces mayor, resistencia que era además transferible a otras bacterias. A comienzos de 1970, el trimetoprim-sulfametoxazol y la ampicilina se introdujeron en el tratamiento de la Shigelosis y mostraron su efectividad y ha mediado de los años 80, surgieron cepas resistentes y comenzó la circulación de factores R (mediadores de esta resistencia). (Tenover & Mc Gowan, 1996); (Chin, 2001); (Livermore et al., 2006).

El origen genético de la resistencia de *Shigella spp* a los antimicrobianos se debe fundamentalmente a la adquisición de plásmidos y a mutaciones cromosómicas. En regiones de Europa, Asia y América se han realizado estudios con cepas multirresistentes y se ha demostrado la presencia de un plásmido conjugativo de 20 MDa, capaz de transferir frecuentemente la resistencia de una cepa a otra. (Prado et al., 1999); (Marco & Jiménez, 2000).

Los microorganismos del género *Shigella spp* pueden exhibir resistencia a los antimicrobianos desarrollando mecanismos de resistencia que impiden al antibiótico ejercer su mecanismo de acción. (Tenover et al, 1999); (Guerra et al, 2002); (Iverien et al., 2005).

Los Mecanismos de Resistencia de Especies de *Shigella* a los Antimicrobianos son





fundamentalmente tres: (Tenover et al, 1999); (Guerra et al, 2002); (Iverien et al., 2005).

- Producción de enzimas que inactivan el fármaco, dentro de estas tenemos:  $\beta$ - lactamasas (penicilinas), cefalosporinasas (cefalosporinas), cloranfenicol transferasas (cloranfenicol), acetiltransferasas, adeniltransferasas y fosfotransferasas (aminoglucósidos).
- Dificultad en la captación del agente antimicrobiano: los betalactámicos no pueden cruzar con facilidad la membrana externa.
- Disminución en la acumulación celular del antimicrobiano: importante en la resistencia a la tetraciclina, producida por plásmidos, transposones y mutaciones en el cromosoma.

El fenómeno de la resistencia de los microorganismos a los agentes antimicrobianos puede tener un origen natural o genético. La de origen natural es la resistencia que ofrecen las bacterias de una misma cepa o especie frente a un determinado antibacteriano donde todos sus miembros tienen la misma característica. La resistencia de origen genético se debe a cambios en los genes y procesos subsiguientes de selección por las drogas. Estos a su vez, pueden ser de origen cromosómico (mutaciones) y extra cromosómico, debido a elementos extracromosomales en las bacterias, plásmidos, integrones y transposones que pueden ser transferido de una bacteria a otra a través de los mecanismos de transducción, transformación, conjugación y transposición. (Tenover & Mc Gowan, 1996); (Chin, 2001); (Livermore et al., 2006).

La resistencia debida a los cambios cromosómicos se genera por mutaciones en los genes del microorganismo que controlan las estructuras o funciones sobre las que actúan los distintos antimicrobianos, modificando la susceptibilidad del microorganismo. La resistencia por





mutación puede aparecer en una generación (resistencia en un sólo escalón) o en el transcurso de varias generaciones (resistencia en varios escalones). En el caso de la resistencia en un sólo escalón, el microorganismo que era inicialmente sensible a un determinado antimicrobiano se vuelve resistente en la próxima generación. En cambio, en el caso de la resistencia en varios escalones, la sensibilidad disminuye progresivamente a medida que se forman nuevas generaciones y llega un momento en el que la bacteria se vuelve totalmente resistente. (Brown et al., 2001); (Sandel et al., 2002); (Livermore et al., 2006).

La resistencia cromosómica se transfiere en sentido vertical por selección a las células hijas. Con mayor frecuencia, se adquiere por transferencia horizontal de los determinantes de resistencia de una célula donante a otra especie bacteriana por transformación, transducción o conjugación. (Iverien et al., 2005).

La resistencia extracromosomal mediada por plásmidos se caracteriza por la codificación de  $\beta$ -lactamasas y otras enzimas (cefalosporinasas, acetiltransferasas). (Schumacher et al., 2002).

La mayoría de los plásmidos son conjugativos y tienen la habilidad de transferir copias a otras bacterias de la misma o de diferentes especies, estos están codificados por los genes *tra* y algunos son incapaces de transferirse, pero pueden utilizar estos genes en función de plásmidos conjugativos, para asegurar su pase a otras bacterias. (Brown et al., 2001); (Sandel et al., 2002); (Livermore et al., 2006).

#### **4.7.1 Agentes antimicrobianos para el tratamiento y las pruebas de *Shigella spp***





La resistencia antimicrobiana fue descrita inicialmente en *Shigella*, en Japón en 1955; actualmente cepas resistentes a uno o varios antibióticos han sido aisladas prácticamente en todo el mundo. (Heymann, 2011).

Este problema es especialmente dramático en países subdesarrollados o en vías de desarrollo, donde las tasas de resistencia son mayores y el acceso a antimicrobianos de segunda y tercera línea es más dificultoso. (Heymann, 2011).

La OMS recomienda los siguientes agentes antimicrobianos para el tratamiento de la infección y pruebas de susceptibilidad de *Shigella spp*: ampicilina, ciprofloxacino, norfloxacino, enoxacino, ácido nalidíxico, pivmecilinam y trimetoprim-sulfametoxazol (cotrimoxazol). (NCCLS, 2002).

Las pruebas de *Shigella spp* con ciertos antimicrobianos pueden producir resultados engañosos cuando los resultados in vitro no corresponden con la actividad in vivo. Por ejemplo, los aislamientos de *Shigella spp*, por lo regular son susceptibles a los aminoglucósidos (como gentamicina y kanamicina) y a la primera y segunda generación de cefalosporinas en la prueba de difusión en disco. No obstante, frecuentemente el tratamiento con estos medicamentos no es efectivo. (NCCLS, 2002).

La selección del tratamiento antimicrobiano debe estar basada en los resultados de pruebas recientes de susceptibilidad de las cepas de *Shigella spp* obtenidas de la misma región o de zonas





cercanas, si la infección por *Shigella spp* es nueva en el área. (Piano M. et al, 2001).

Lamentablemente, la resistencia de las cepas de *Shigella spp* a ampicilina y trimetoprim-sulfametoxazol está muy extendida. El ácido nalidíxico, que anteriormente se usaba como medicamento de respaldo para tratar la Shigelosis resistente, es ahora el fármaco de elección en la mayoría de los lugares, aunque está surgiendo resistencia en muchas partes. Cuando exista resistencia al ácido nalidíxico, las cepas de *Shigella spp* deben probarse con ciprofloxacino, aunque las cepas resistentes al ácido nalidíxico a menudo presentan susceptibilidad reducida a ciprofloxacino. El pivmecilinam (pivoxilamdinocilina) es todavía efectivo para la mayoría de las cepas de *Shigella spp*, pero es probable que no se pueda obtener fácilmente. Las fluoroquinolonas (por ejemplo, ciprofloxacino, norfloxacino y enoxacino) son a menudo caras y quizás no se pueda disponer de ellas fácilmente; solo deberá considerarse su uso cuando aislamientos de *Shigella spp* sean resistentes al ácido nalidíxico. (Piano M. et al, 2001).

A mediados del año 2000, las cepas de *Shigella* eran a menudo resistentes a ampicilina, trimetoprim-sulfametoxazol, metronidazol, estreptomina, tetraciclina, cloranfenicol y a las sulfonamidas. Además, aunque esta bacteria puede ser susceptible a algunos agentes antimicrobianos in vitro, podría no estar documentada su eficacia in vivo. Entre estos agentes tenemos los nitrofuranos (nitrofurantoína, furazolidona), los aminoglucósidos (gentamicina, kanamicina), cefalosporinas de primera y segunda generación (cefalexina, cefamandol y amoxicilina), etc. (Piano M. et al, 2001).

#### **4.7.2 Mecanismos generales de Resistencia Bacteriana a los Antibióticos**





El número de genes de resistencia a antibióticos identificados hasta la fecha es inmenso, pero los mecanismos mediante los cuales producen resistencia se pueden agrupar en unos pocos mecanismos generales: Tenover et al, 1999); (Guerra et al, 2002); (Iverien et al., 2005).

- Bloqueo del transporte del antibiótico: Se consigue resistencia a la fosfomicina por pérdida del sistema de transporte del glicerol-fosfato que es el que usa la fosfomicina para alcanzar el interior de la bacteria.
- Modificación enzimática del antibiótico: El cloranfenicol se inactiva por acetilación catalizada por una cloranfenicol-acetiltransferasas.
- Expulsión del antibiótico por un mecanismo activo de bombeo: La tetraciclina se expulsa de forma activa del interior de las bacterias resistentes.
- Modificación del blanco o sitio de acción del antibiótico: La metilación del ARN23S en una posición específica confiere resistencia a los macrólidos que no pueden fijarse al ribosoma y producir su efecto inhibitorio.
- Producción de una enzima alternativa que evita el efecto inhibitorio (bypass): La resistencia a trimetoprim se consigue produciendo una dihidrofolato-reductasa nueva que deja sin efecto la inhibición de la dihidrofolato- reductasa normal de la bacteria.

Puede ocurrir que un mismo gen confiera resistencia a varios antibióticos del mismo grupo (un gen bla produce una  $\beta$ -lactamasa que inactiva varios antibióticos  $\beta$ -lactámicos) o a varios antibióticos diferentes (genes mar que producen resistencia a varios antibióticos por alteración del transporte). En estos casos hablamos de resistencias cruzadas. (Pérez et al., 1998).





No hay que confundir esta situación con otra en que se observa resistencia a varios antibióticos por acumulación de varios genes de resistencia diferentes. En estos casos hablamos de resistencia múltiple o multiresistencia. (Pérez et al., 1998).

Tampoco es extraño que en una misma bacteria concurren simultáneamente dos mecanismos diferentes de resistencia al mismo antibiótico produciendo CMI muy altas. La resistencia a fosfomicina se consigue por bloqueo del transporte o por inactivación del antibiótico. (Pérez et al., 1998).

En ambos casos, la CMI de las cepas resistentes es del orden de 0,1 mg/ml. Cuando en una bacteria concurren los dos mecanismos de resistencia a fosfomicina, la CMI puede ser mayor que 5 mg/ml. (Pérez et al., 1998).

#### **4.7.3 Mecanismo de Acción de los Antibióticos**

##### **Betalactámicos**

La acción de los  $\beta$ -lactámicos se desarrolla mediante la inhibición de las etapas finales de la síntesis del peptidoglicano o mureína que es un polímero esencial en la pared de casi todas las bacterias. (Florez et al., 1997).

- **Mecanismo de acción de Ampicilina**

Como todos los antibióticos betalactámicos, la ampicilina es capaz de penetrar bacterias Gram





positivas, algunas Gram negativas y aerobias. Interfiere con la síntesis de la pared celular durante la replicación celular. Esto se debe a su efecto inhibitorio de la síntesis de la pared celular de la bacteria en sus últimas dos etapas (3 y 4), uniéndose a las PBP (proteínas fijadoras de penicilinas), lo que lleva a la destrucción de la pared y la consiguiente lisis celular. La ampicilina inhibe la formación de puentes en la capa de peptidoglicano (la que proporciona rigidez a la pared celular). La mayor efectividad ocurre en la fase logarítmica de crecimiento, cuando se están formando los puentes de peptidoglicano y tiene menor efecto en células en la fase estacionaria de crecimiento. (Jiménez et al., 2011).

- **Mecanismo de acción de Tetraciclina**

Las tetraciclinas inhiben la síntesis de las proteínas bacterianas por fijarse a la subunidad ribosómica 30 S. Bloquean la fijación del aminoacil ARNt al sitio aceptor del complejo ARNm-ribosoma y en consecuencia, la adición de nuevos aminoácidos a la cadena peptídica en crecimiento; Además de este mecanismo básico, las tetraciclinas pueden quelar (secuestrante, o antagonista de metales pesados) el magnesio necesario para que se produzca la unión ribosómica e inhibir algunos sistemas enzimáticos bacterianos, entre otros los implicados en la fosforilación oxidativa. Mediante este mecanismo de acción, las tetraciclinas producen un efecto bacteriostático, aunque en ocasiones, si las bacterias son muy sensibles y la concentración alcanzada es elevada, pueden provocar su destrucción. (Jiménez et al., 2011).

La penetración en el citoplasma bacteriano se realiza mediante difusión pasiva a través de poros de la pared bacteriana y posteriormente por mecanismos de transporte activo asociado a





algún transportador. Precisamente, la alteración del sistema de transporte activo es el principal sistema de resistencia de las bacterias a las tetraciclinas. (Jiménez et al., 2011).

Esta resistencia al parecer está mediada por plásmidos y es inducible. Se han descrito otros sistemas de resistencia, como la síntesis de enzimas inactivadoras. (Jiménez et al., 2011).

- **Mecanismo de acción de Cloranfenicol.**

Este fármaco se fija a la subunidad 50S del ribosoma tras penetrar por difusión facilitada en el citoplasma bacteriano. La unión al ribosoma se realiza de tal forma que impide la fijación del aminoacil ARNt, por lo que se detiene la síntesis proteica. (Jiménez et al., 2011).

El cloranfenicol podría inhibir también la síntesis proteica en células eucariotas, lo que justificaría en gran medida algunos aspectos de su toxicidad. La consecuencia para la bacteria sensible es la inhibición de su multiplicación, por lo que el efecto es bacteriostático. (Jiménez et al., 2011).

El mecanismo de resistencia bacteriana más importante es la elaboración de enzimas inactivantes. Se trata de acetiltransferasas capaces de acetilar al cloranfenicol utilizando como fuente la acetilcoenzima A y transformarlo en derivados inactivos. Este mecanismo de resistencia es extra cromosómico y está mediado por plásmidos constitutivos en el caso de algunos bacilos Gram negativos e inducibles en el de cocos Gram positivos. Existe también resistencia cromosómica consistente en impermeabilidad de la bacteria para el antibiótico.





(Jiménez et al., 2011).

### **Mecanismo de acción de Quinolonas: Sulfamidas, Trimetoprim, Acido nalidíxico,**

Esencialmente, este grupo de quimioterápicos producen un efecto bactericida. Penetran en la bacteria a través de las porinas, no afectándoles la integridad de la pared celular. Una vez dentro de la célula actúan inhibiendo una enzima que prepara el ADN para la transcripción, la ADN-girasa (por ello se las denomina «inhibidores de la girasa»). Esta enzima está compuesta de cuatro subunidades (dos subunidades A y dos B) y es la responsable del enrollamiento de las bandas de ADN. (Jiménez et al., 2011).

Las quinolonas actúan interfiriendo en la síntesis del ADN al bloquear la reacción de super enrollamiento dependiente del ATP y catalizada por la girasa; esta enzima es también responsable de otras actividades necesarias para la integridad del ADN, como son la unión y separación de las bandas que lo componen y la hidrólisis del ATP, que por lo tanto también serán alteradas. (Jiménez et al., 2011).

Las quinolonas, además, a concentraciones mayores que las necesarias para inhibir la ADN-girasa pueden inhibir la topoisomerasa II, enzima cuya secuencia de aminoácidos presenta homología con la girasa y cuyo papel es también de gran importancia en la reacción de super enrollamiento del ADN. (Jiménez et al., 2011).

La acción bactericida se observa principalmente en el caso de las fluoroquinolonas, siendo además bifásica: para cada quinolona existe una concentración bactericida máxima por encima





de la cual la actividad disminuye, pero que vuelve a aumentarse si se incrementa más la concentración. Esta característica parece que se explica por el hecho de que con ciertas concentraciones la acción bacteriostática impide la síntesis de proteínas que participan en la acción bactericida. (Jiménez et al., 2011).

También disminuye la actividad bactericida si previamente se ha inhibido la síntesis de proteínas en las bacterias; por ello, no es recomendable su utilización conjunta con sustancias que inhiban la síntesis proteica o el ARN bacteriano (rifampicina y cloranfenicol) ya que puede reducirse de forma significativa la actividad bactericida. (Jiménez et al., 2011).

- **Mecanismo de acción de sulfamidas**

Son quimioterápicos sintéticos derivados de la para-aminobencenosulfonamida (sulfanilamida). Las sulfamidas actúan sobre bacterias en crecimiento inhibiendo la síntesis de ácido fólico, por lo que producen un efecto bacteriostático. (Jiménez et al., 2011).

Por su estructura análoga a la del ácido para-aminobenzoico (PABA), las sulfamidas inhiben competitivamente la incorporación de PABA a la pteridina para formar el ácido tetrahidropterico; presentan gran afinidad por la tetrahidropterico-sintetasa. La sulfamida puede ser incorporada al dihidropteroato. La presencia de PABA o timidina (producto final de síntesis que requiere ácido fólico) reduce la actividad antibacteriana, puesto que la acción inhibidora es competitiva. El resultado último de esta alteración de la síntesis de ácido fólico es una disminución de nucleótidos, con inhibición del crecimiento bacteriano. (Jiménez et al.,





2011).

Se cree que también actúan inactivando otras enzimas, como deshidrogenasa o carboxilasa, produciendo una inhibición del metabolismo intermediario bacteriano. (Jiménez et al., 2011).

- **Mecanismo de acción de Trimetoprim - Sulfametoxazole**

Inhibe la dihidrofolato-reductasa de bacterias y protozoos, con una sensibilidad 50.000-100.000 veces superior que la enzima de células humanas. De este modo interfiere en la transformación de dihidrofolato en tetrahidrofolato y secundariamente, en la síntesis de ácido desoxitimidílico, resultando en una inhibición de la síntesis de ADN y proteínas bacterianas. (Jiménez et al., 2011).

Las resistencias bacterianas a trimetoprim se deben a cambios en la permeabilidad celular, a una disminución de la capacidad de fijación fármaco-bacteria o a una superproducción o alteración de la enzima dihidrofolato-reductasa. La alteración enzimática está codificada por un plásmido (factor R), mientras que los restantes mecanismos se deben a mutaciones cromosómicas. El mecanismo más importante por su repercusión clínica es el debido a la existencia del plásmido. (Jiménez et al., 2011).

- **Mecanismo de acción de Ácido nalidíxico**

El ácido nalidíxico es un antibiótico del grupo de las quinolonas, activa en contra de Gram





negativas. A concentraciones menores actúa como bacteriostático, es decir, inhibe el crecimiento y reproducción bacteriana, sin matar el organismo. A concentraciones más elevadas actúa como bactericida, es decir, mata la bacteria en vez de simplemente inhibir su reproducción. El ácido nalidíxico selectiva y reversiblemente bloquea la replicación del ADN bacteriano, por medio de la inhibición de la subunidad A de la enzima girasa del ADN induciendo la formación de un complejo enzimático ineficaz. Sus acciones también pueden causar que el empaquetamiento ultratorcional del ADN se vea relajado, causando inestabilidad en las moléculas genéticas. (Jiménez et al., 2011).

- **Mecanismo de acción de Cotrimoxazol**

Es la combinación fija de sulfametoxazol con trimetoprim en proporción 5:1, con la que se alcanza en sangre una relación 20:1 que in vitro es la más eficaz. (Jiménez et al., 2011).

Los dos componentes bloquean la síntesis de ácido fólico en dos etapas diferentes, según se ha explicado anteriormente. Este bloqueo secuencial de una cascada de síntesis representa una acción potenciadora de la de cada componente, hecho demostrado tanto in vitro como in vivo. (Jiménez et al., 2011).

En la práctica mantienen el espectro propio de cada uno de los componentes, con la diferencia de que frente a algunos microorganismos pueden comportarse como bactericidas. La sinergia es máxima cuando un germen es susceptible a ambos productos, pero también se observa cuando es resistente al sulfametoxazol. Es esencial la sensibilidad a la trimetoprim. Son sensibles al





cotrimoxazol el 95 % de los gérmenes susceptibles a ambos componentes, el 60 % de los resistentes a sulfametoxazol y el 45 % de los resistentes a trimetoprim. (Jiménez et al., 2011).





## V. CONCLUSION

Las enfermedades intestinales causadas por microorganismos patógenos para el ser humano, conforman un grupo de enfermedad de alta importancia debido a su frecuencia e impacto en la sociedad, de ahí la importancia *Shigella spp* cuya patología causada es la de shigelosis o Disentería Bacilar, enfermedad diarreica aguda (EDA), como resultado de la contaminación fecal directa, o por la ingesta de agua y los alimentos contaminados, las moscas transportan los microorganismos de letrinas a alimentos no refrigerados, donde los microorganismos sobreviven y se multiplican.

Esta entidad clínica es una infección bacteriana aguda autolimitada del intestino humano causada por bacterias del género *Shigella*, que afecta predominantemente al colon y recto, produciendo diarreas de aspecto mucopiosanguinolento.

Se describió las características microbiológicas y taxonómicas que presentan el género *Shigella* indicando que de sus cuatro serogrupos *Shigella Dysenteriae* es la especie más virulenta y la causante de epidemias de disenterías grandes y prolongadas, *Shigella flexneri* el causante de infecciones diarreicas en países en desarrollo, *Shigella sonnei* el causante de infecciones diarreicas en países desarrollados o industrializados y *Shigella boydii* tienen una evolución clínica breve y una tasa de letalidad casi insignificante, excepto en los huéspedes





inmunodeficientes.

Los métodos de aislamientos e identificación de *Shigella* son Siembra Directa en Placa en medios de Agar posterior identificación bioquímica e Identificación Serológica. Cabe mencionar existen otros métodos de identificación para *Shigella* pero por ser altamente costosos y de procedimientos de tiempo prolongado no se realizan en Nicaragua.

La resistencia antimicrobiana es uno de los problemas emergentes de salud a escala mundial y específicamente en cepas de *Shigella*, no están aún bien identificados los patrones que circulan en el mundo. Por estudios realizados en algunos países, se conoce del desarrollo de altos niveles de resistencia a los antimicrobianos empleados o recomendados como tratamiento de elección.

La elección de medicamentos específicos para el tratamiento, dependerá del antibiograma de la cepa aislada o de los patrones de sensibilidad local a los agentes antimicrobianos.





## VI. BIBLIOGRAFIA

Adams, M. (1987). Microbiología de los Alimentos.

Baron, E. L. (1994). Diagnostic Microbiology. St Louis. MO. Ninth Edition; 322.

Barón, Peterson, L. R., J. E. & Finegold. (1994). *Bailey & Diagnostic Microbiology de Scott*.

Bopp, C., & Ajello, G. (1999). *Métodos de Laboratorio para el Diagnóstico de la Epidemia de Disentería*. Atlanta, Georgia.

Bopp, C., Wells, J., & Dowell, S. F. (2002-2004). *Manual de Laboratorio para la Identificación y Prueba de Susceptibilidad a los Antimicrobianos de Patógenos Bacterianos de Importancia para la Salud Pública en el Mundo en Desarrollo*. Atlanta, Georgia, EUA.

CNDR/MINSA. (2004). *Manual de Procedimientos de Bacteriología Médica*. Nicaragua.

Camacho AI, I. J. (2013). Los recientes progresos hacia el desarrollo de una vacuna contra *Shigella*. 43 - 55.





Carlos Baca, L. Y. (2014). Serotipos y susceptibilidad antimicrobiana de *Shigella* aisladas en un instituto de salud pediátrico de Lima, Perú . *Rev Med Hered* , 25:73-79.

Carreño, T. P. (2008). Toxicología Alimentaria.

Cortés, L. M. (2010). Importancia de la Contaminación Biológica de los Alimentos. *BIOMED* , 14:121-123.

David Alejandro Cabrera-Gaytán, M. A.-B.-M.-M. (2012 -2013). Enfermedad diarreica aguda en niños menores de cinco años de edad: aportaciones de los núcleos trazadores de vigilancia epidemiológica . *Investigación Materno Infantil* , 118 - 125.

Diaz, R. F. (2010). Regulación Sanitaria, Sistema de Inocuidad, Inspección Vigilancia y Control. *Inspectores Sanitarios del Ministerio de Salud* .

Fabiola González, B. S. (2008). Serotipos y resistencia antimicrobiana de cepas de *Shigella flexneri* aisladas de niños con diarrea aguda. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología* , 28:110-115.

Felsenfeld, & Shiga, O. K. (1957). Ciencias de la Bacteriología. *Historia de la Medicina* , 126(3264):113.





FDA, F. (2013). *Bacteriological Analytical Methods (BAM): Shigella spp.*

Florez, J. ( 1997). Farmacología humana. MASSON, S.A , 1079-1171.

Frazier, & Pascual, M. d. (1993). *Microbiología de los Alimentos*. Acribia.

Grasmick, A., Baron, E. J., Peterson, L. R., & Finegold, S. M. (1994). Diagnóstico Microbiológico de Bailey & Scott's. *Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades y Organización Mundial de la Salud, Enfermedades Transmisibles: Vigilancia y Respuesta* , 113-117.

Gibson GR, R. M. (1995). Modulación de la Dieta de la Microbiota del Colon Humano. *Introduciendo el concepto de probióticos* , 1401-1412.

Heymann. (2011). El Control de las Enfermedades Transmisibles.

Iraiz Bellorína, G. U. (2008). Serotipos y resistencia antimicrobiana de cepas de *Shigella* aisladas de niños con diarrea aguda. Relación entre el serotipo y la severidad del episodio . *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología* , 28:110-115.

José-Luis Morales 1, K. R. (2005). Presencia de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido. *An Fac Med Lima* , 66(1).





Jiménez, A., Tijerino, A. & Vargas, J. L. (2011). *Mecanismos de resistencia a los antibióticos de importancia clínica en enterobacterias*. Madrid.

Jiménez, A., Tijerino, A. & Vargas, J. L. (2011). *Mecanismos de resistencia a los antibióticos de importancia clínica en enterobacterias*. Costa Rica.

Keusch GT, A. D. (1995). *Shigellosis: Enfermedades Diarreicas en el Niño*.

Koneman, E. W. (1996). *Microbiología de la Investigación*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.

León-Ramírez, S. (2002). *Shigelosis (disentería bacilar)*. *Salud en Tabasco* , 22 - 25.

Leonor Díaz Rigau, I. L. (2009). Serogrupos y susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Shigella*. *Revista Cubana de Pediatría* .

L, G., P., M., Barón, E. & M, P. (1996). *Manual of Clinical Microbiology*. Washington DC: Sociedad Americana de Microbiología.

Leonor Díaz Rigau, I. L. (2009). Serogrupos y susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Shigella*. *Revista Cubana de Pediatría*.





López, S., Aguilar, X., López, S., Calderón, V., Videa, T., Ávila, J., y otros. (2004). *Manual de Procedimientos de Bacteriología Médica*. Nicaragua.

Luis del Piano M., H. T. (2001). Patrones de sensibilidad in vitro y comportamiento clínico de *Shigella*. *Rev Chil Infect* , 18 (2): 101-107.

Luis A. Merino, L. S. (2010). *FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE*.

Mandell, U, Douglas, R., Jr., Bennett, & E, J. (1997). *Principios y Práctica de las Enfermedades Infecciosas*. Churchill Livingstone, Nueva York.

Mandell, U. R. (1997). *Principios y Práctica de las Enfermedades Infecciosa*. Churchill Livingstone, Nueva York: 5.

Marylin Hidalgo, M. E. (2008). Enfermedad diarreica aguda causado por *Shigella* . *Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal* , 272 - 279.

OMS. (1990). *Manipulación correcta de los alimentos* .

Marylin Hidalgo, M. E. (2008). Enfermedad diarreica aguda causado por *Shigella* . *Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal* , 272 - 279.





Mateos-Rodríguez, A. P.-G. (2010). *Enterobacterias*. España.

Mendieta, D., Guzmán, F., Lona, R. C., Espinoza, T., Machado, u. M., Herrera, A. M., y otros. (2006 - 2011). Norma Técnica Obligatoria Nicaraguense.

Mendell, Douglas, & Bennett. (1991). *Principios y Prácticas de las Enfermedades Infecciosas*. Churchill Livingstone, New York.

Merk, E. (1994). *Manual de Medios de Cultivos*. Darmstadt Alemania.

MINSAL. (2010). *Vigilancia de Shigella spp*. Chile.

MINSAL. (1987). *Normas y Procedimientos de Higiene*. Managua - Nicaragua.

MINSAL. (2003). *Situación Epidemiológica de la Enfermedad Diarreica en Nicaragua*. Nicaragua: Boletín Epidemiológico, CEDOC.

Montiel de Morales, M. Z. (2005). *Indicadores bacterianos de contaminación fecal*. Venezuela.

Murray & P.R. (1995). *Manual de Microbiología Clínica*. Washington, D.C.

Nair, B. (1992). *Clínica, Manual de Microbiología*. Washington, D.C., E.U.A.





Noriega FR, L. F. (1999). Estrategia para la protección cruzada entre serotipos de Shigella . 67 (2): 782-788.

Prado, V., Solari, V. & Carreño, M. (1999-2000). *Enfermedades Transmitidas por los Alimentos*. Santiago de Chile.

Pérez, D. (1998). *Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria*. España.

Pérez, D. R., Peláez, D. R., Prieto, D. V., & Peláez, D. L. (2009). Síndrome de Reiter: una observación infrecuente. *Revista Archivo Médico de Camagüey* .

Provincia, E. d. *Enfermedades Infecciosas*. Filial de Ciencias Médicas de La Habana, Habana Cuba.

Reglamento Técnico Centroamericano, (. 6. (2008). *Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos*. Centroamérica.

Ramírez, S. L. (2002). *Shigelosis (disentería bacilar)*. *Salud en Tabasco* .

Rivera, M., Rodríguez, C. & López, J. (2009). Contaminación Fecal de los Alimentos. *Laboratorio de Microbiología y Parasitología, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Salud*.





Salud, O. P. (200 - 2001). *El Control de las Enfermedades Transmisibles*. Washington, DC 2003  
EUA.

Scull, G. S. (2009). Serogrupos y susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Shigella*. *Revista Cubana de Pediatría* .

Shiga, O. K. (1957 -2001). *Bacteriologist Science en Español*.





## VII. GLOSARIO

**Acetilar:** La acetilación (o etanoilación, según la nomenclatura de la IUPAC) consiste en una reacción que introduce un grupo acetilo en un compuesto químico. Introducir un radical acetilo en una molécula.

**Bacteremia:** Presencia de bacterias en la sangre. La sangre es normalmente un medio estéril, por lo tanto la detección de bacterias es indicativa de infección. La definición de bacteremia no requiere un cuadro clínico manifiesto. Éste concepto no debe confundirse con el de sepsis, que se refiere a la respuesta inflamatoria sistémica que tiene lugar ante una infección. A la coexistencia de sepsis y bacteriemia se la denomina septicemia.

**Bacteriofágica:** Tipo de virus que infecta y solo se reproduce en el interior de las bacterias provocando su lisis. También se denomina fago.

**CMI:** La Concentración mínima inhibitoria (MIC), en microbiología, es la concentración más baja de un antimicrobiano que inhibe el crecimiento de un microorganismo después de su incubación. La concentración mínima inhibitoria es importante en el diagnóstico del laboratorio, para confirmar la resistencia de microorganismos a un agente antimicrobiano y además para





monitorizar la actividad de los nuevos agentes antimicrobianos.

**Escrutinio:** Examen o análisis exacto y minucioso que se hace de algo.

**FDA** (Agencia de Alimentos y Medicamentos o Agencia de Drogas y Alimentos): es la agencia del gobierno de los Estados Unidos responsable de la regulación de alimentos (tanto para personas como para animales), medicamentos (humanos y veterinarios), cosméticos, aparatos médicos (humanos y animales), productos biológicos y derivados sanguíneos.

**Galactósido permeasa:** Enzima que cataliza el transporte de lactosa al interior de la célula.

**Galactosidasa:** una enzima que hidroliza la melibiosa a galactosa + glucosa. Su déficit ocasiona la enfermedad de Fabry.

**HUS:** Síndrome Urémico Hemolítico: también denominado Síndrome Hemolítico Urémico (SHU), se caracteriza por insuficiencia renal, anemia hemolítica, trombocitopenia y defectos de la coagulación. Es la consecuencia de toxinas bacterianas que producen lesiones en los pequeños vasos sanguíneos que afecta fundamentalmente al riñón, pero también puede afectar al sistema nervioso central y al aparato gastrointestinal. El síndrome urémico hemolítico por *E. coli*





productora de la toxina tipo Shiga o verotoxina, es un trastorno que ocurre generalmente cuando una infección en el aparato digestivo produce sustancias tóxicas que destruyen los glóbulos rojos, causando lesión a los riñones.

**MDR (Multidrogresistentes):** Resistencia Total a los Antibióticos.

**OMS:** Organización Mundial de la Salud; Se encarga de gestionar políticas de prevención, promoción e intervención en salud a nivel mundial.

**OPS (Organización Panamericana de la Salud):** Organismo especializado de la salud del sistema interamericano, encabezado por la Organización de los Estados Americanos (OEA) y está afiliada a la OMS. Está dedicada a controlar y coordinar políticas que promuevan la salud y el bienestar en los países americanos.

**PBP:** Proteínas fijadoras de penicilinas.

**Quelar:** Un quelante, o secuestrante, o antagonista de metales pesados, es una sustancia que forma complejos con iones de metales pesados. A estos complejos se los conoce como quelatos, palabra que proviene de la palabra griega *chele* que significa "garra".





**Quimioheterótrofos:** Llamamos quimioheterótrofos a aquel individuo que tiene como fuente de energía las reacciones y, como fuente de carbono, la materia orgánica.

**Quimioterápicos:** son sustancias con actividad antimicrobiana (microbicida o microbiostática), con toxicidad suficientemente baja como para poder ser administrados a un organismo por la vía adecuada, hasta alcanzar y mantener concentraciones eficaces en los tejidos.

**Serovar:** o serotipo es un tipo de microorganismo infeccioso clasificado según los antígenos que presentan en su superficie celular. Los serotipos permiten diferenciar organismos a nivel de subespecie, algo de gran importancia en epidemiología.

**SNC/ SNVE:** Sistema Nervioso Central/ Sistema Nicaragüense de Vigilancia Epidemiológica.

**Tenesmo:** Es la sensación de que usted necesita defecar, aunque los intestinos ya estén vacíos. Esto puede estar acompañado de dolor, cólicos y esfuerzo para defecar.





## **III. ANEXOS**





*Img 1.*

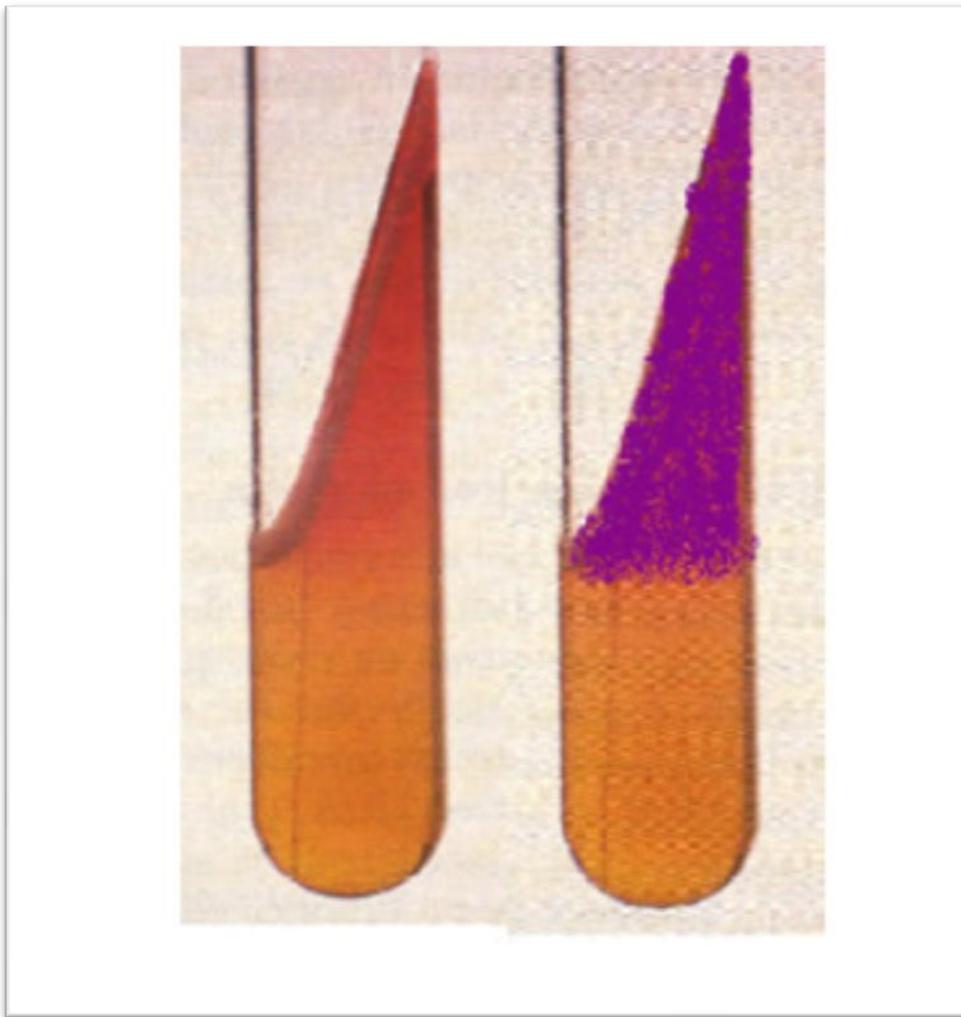
*Reacción típica de Shigella spp en Agar Hierro de Kligler (AHK): cuña alcalina y tope ácido (K/A)*





*Img.2*

*Reacción Característica de Shigella spp en Agar TSI/LIA*





*Img. 3*

*Medio de motilidad mostrando un organismo inmóvil en el tubo de la izquierda y un organismo móvil en el tubo de la derecha Todas las Especies de Shigella son Movilidad Negativa.*





**Img.4**

*Un color rosado se desarrolla en una reacción de ureasa positiva (tubo de la izquierda).*

*Un color amarillo indica reacción de ureasa negativa (tubo de la derecha).*





**Img.5**

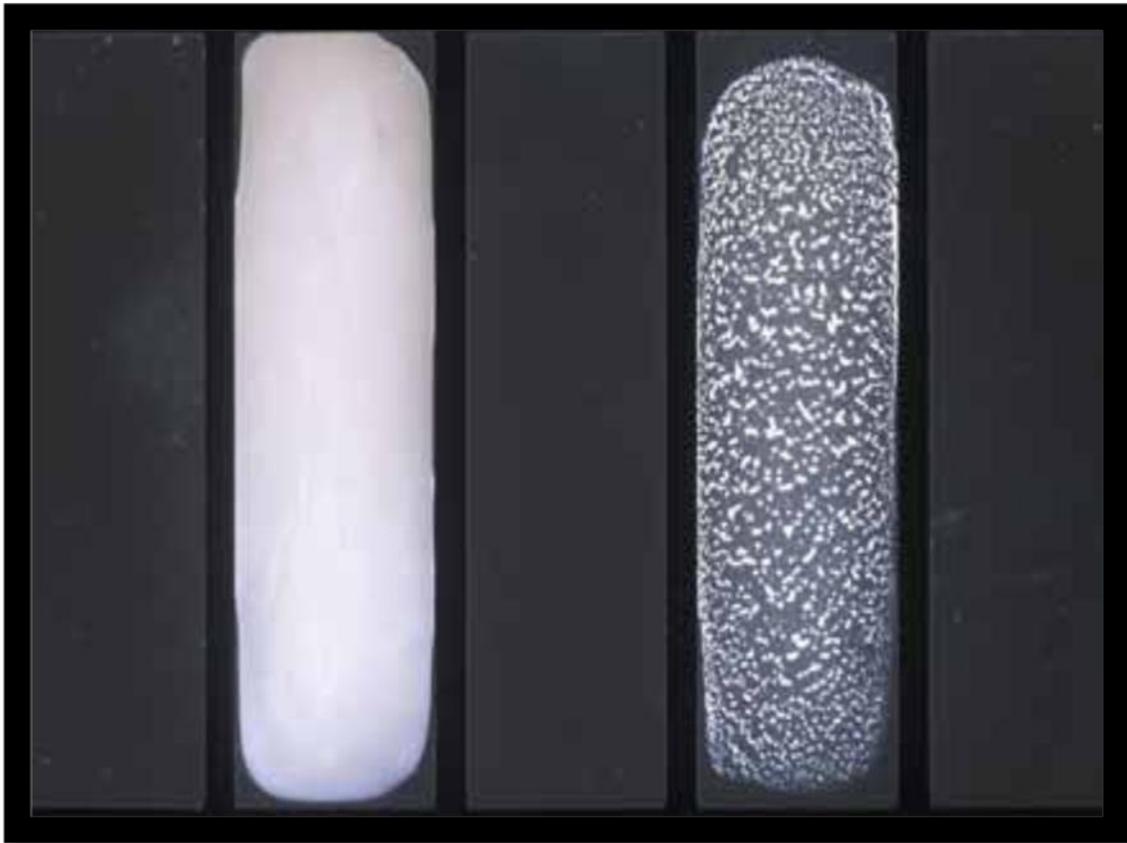
*Los microorganismos positivos a la lisina descarboxilasa producen un color púrpura en el medio de AHL (tubo de la derecha). Los microorganismos negativos a la lisina producen un color amarillo (ácido) en el fondo (tubo de la izquierda). Especies Shigellas lisina descarboxilasa Negativo.*





**Img.6**

*El antisuero de Shigella spp aglutinará las cepas del mismo subgrupo o serotipo (derecha); por el contrario, la suspensión de Shigella spp de la izquierda no aglutina cuando se mezcla con salina.*





**Img.7**

*Este aislamiento de Shigella spp es resistente a Trimetoprim-Sulfametoxazole (Cotrimoxazol) y está creciendo hasta el disco (SXT), cuya zona se registra como de 6 mm. Además de las zonas de inhibición de crecimiento, observe qué distribución tan uniforme la del crecimiento en la placa.*





**Img.8**

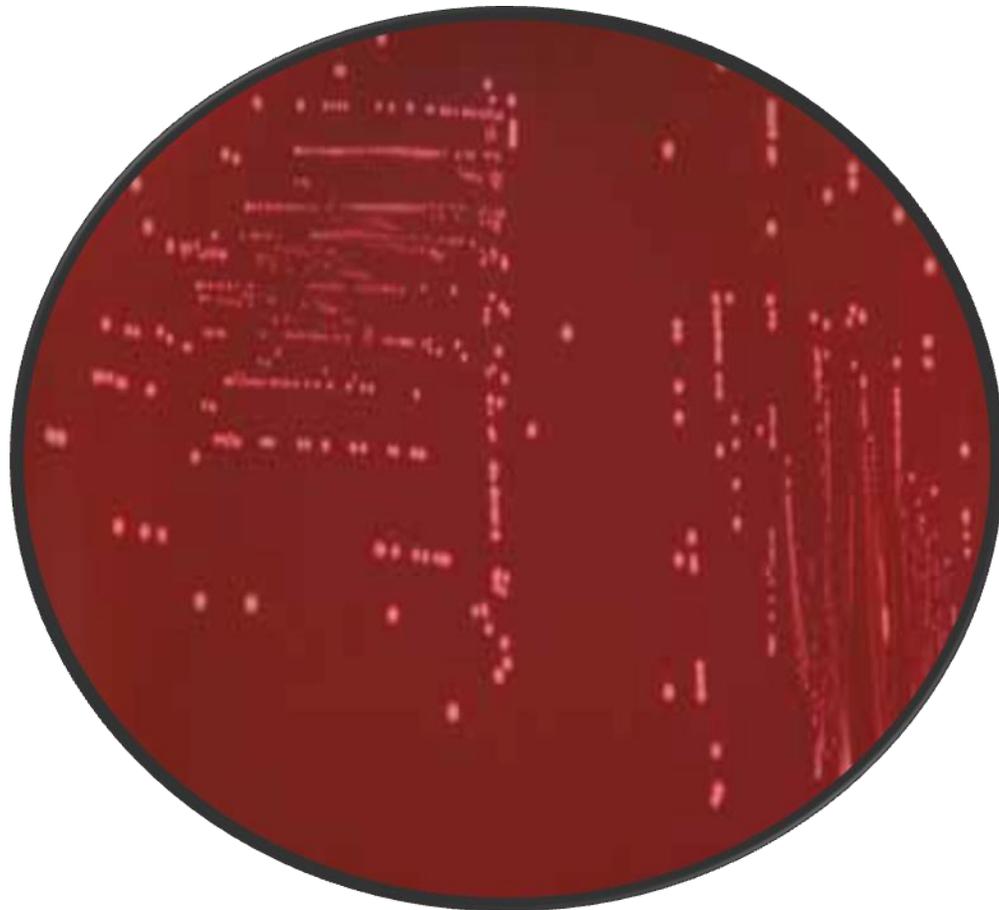
*Las colonias aparecen como pequeños puntitos de crecimiento; este patrón es característico del crecimiento de S. dysenteriae tipo 1 específicamente en DXL y puede servir de guía para la identificación del agente etiológico. Colonias de Shigella dysenteriae 1 en agar desoxicolato xilosa lisina (DXL).*





**Img.9**

*Colonias de Shigella flexneri en agar desoxicolato xilosa lisina (DXL), son más grandes que las colonias de S. dysenteriae 1.*





**Img. 10**

**Colonias de *Shigella flexneri* y *Escherichia coli* en agar desoxicolato xilosa lisina (DXL).**

**Las colonias de *S. flexneri* i en DXL son de incoloras a rojas, mientras que las colonias de *E. coli* son amarillas.**

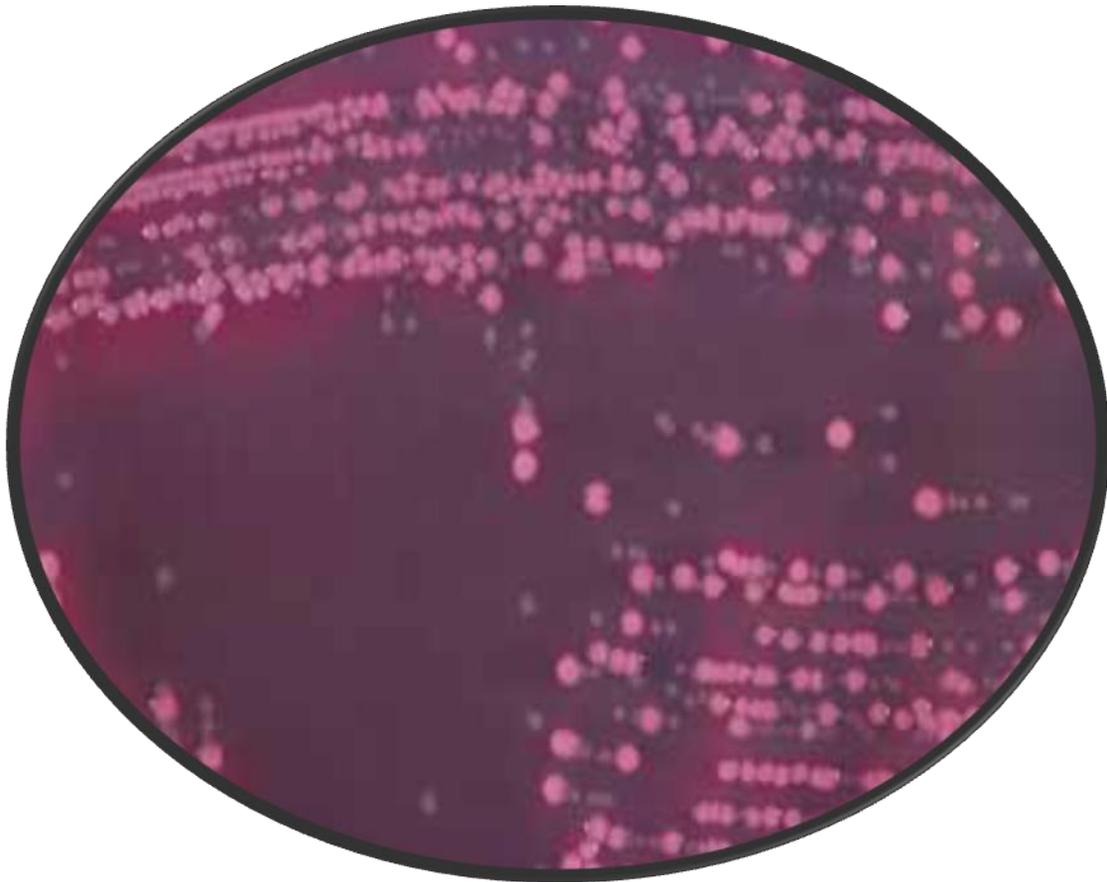




**Img. 11**

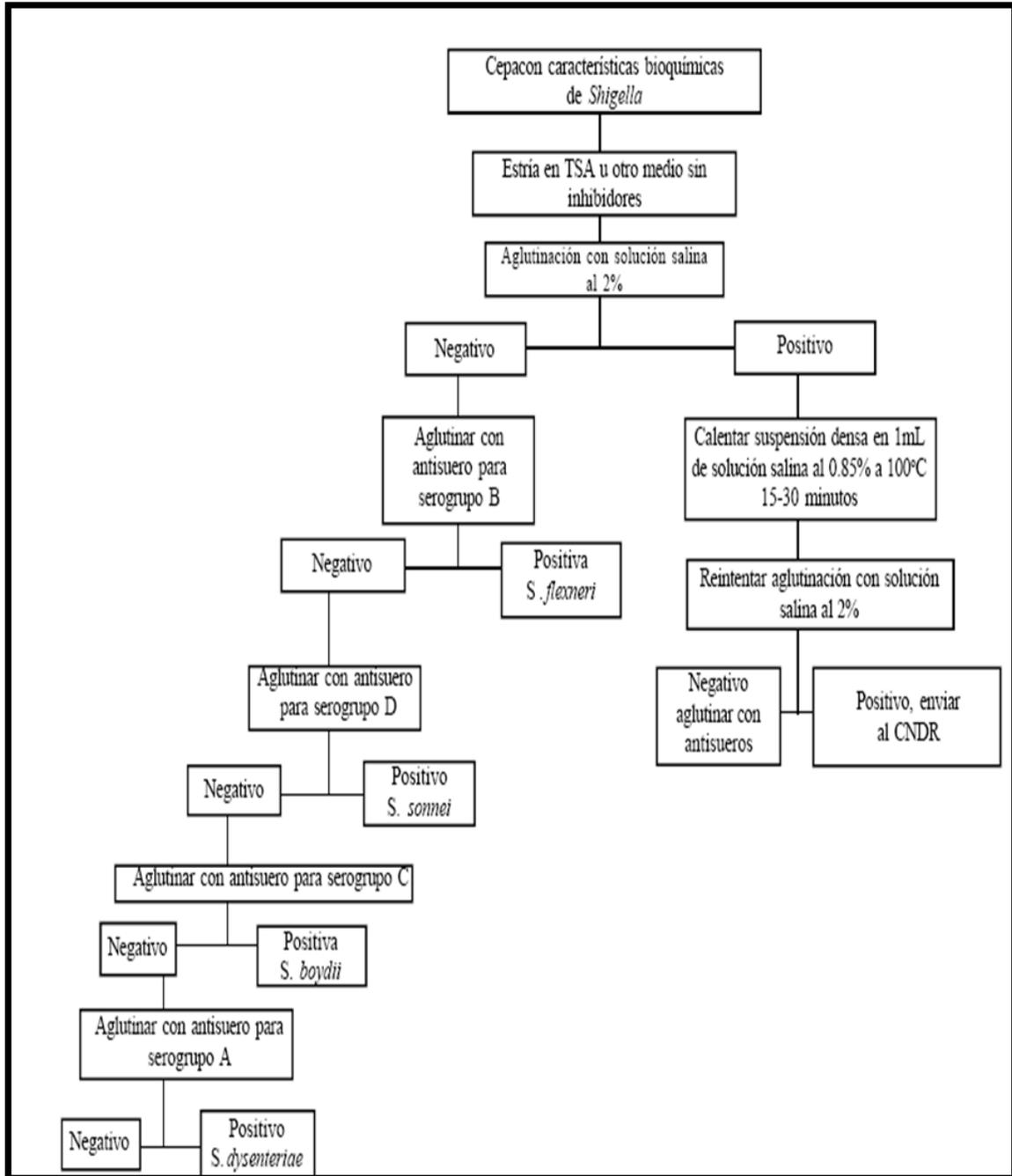
**Colonias de *Shigella flexneri* y *Escherichia coli* en agar MacConkey (AMC)**

**Las colonias de *S. flexneri* aparecen incoloras en AMC, mientras que las colonias de *E. coli* son de color rosado a rojo.**





Img. 12 Serotipificación para Shigella spp.





**Img.13 Designación de los Serogrupos y Serotipos de *Shigella spp*.**

<i>Shigella</i> (nombre común)	Designación de subgrupo (antisuero polivalente)	Serotipos (antisuero monovalente)	(La etiqueta en el antisuero comercial puede también decir)
<i>S. dysenteriae</i>	Grupo A	1 – 15 <sup>a,b</sup>	(A1, A2, A3, ..., A13)
<i>S. flexneri</i>	Grupo B	1 – 6, X, Y	(B1, B2, B3, B4, B5, B6)
<i>S. boydii</i> <sup>c</sup>	Grupo C	1 – 19 <sup>b</sup>	(C1, C2, C3, ..., C18)
<i>S. sonnei</i>	Grupo D	1	(D1)

<sup>a</sup> La detección de *S. dysenteriae* 1 es de particular importancia, ya que es extraordinariamente virulenta y causa disentería endémica o epidémica con alta tasa de mortalidad. Se requiere anticuerpo monovalente (absorbido) para identificar aislamientos de *S. dysenteriae* 1.

<sup>b</sup> Se ha informado de otros serotipos provisionales, pero al momento de imprimir este manual, no había antisueros de esos nuevos serotipos disponibles comercialmente.

<sup>c</sup> Dado que los aislamientos de *S. boydii* son sumamente raros, no se justifica el costo de buscar su detección de manera rutinaria.

**Img.14 Reacciones de *Shigella spp* en Pesquizaje Bioquímico**

Medio de pesquizaje	Reacción de <i>Shigella</i>	Figura (número)
Agar hierro de kligler (AHK)	K/A, no produce gas (cuña roja/fondo amarillo) <sup>a</sup>	Figura 38
Agar hierro triple azúcar (AHTA)	K/A, no produce gas (cuña roja/fondo amarillo) <sup>a</sup>	~
H <sub>2</sub> S (sobre AHK o AHTA)	Negativa (una reacción positiva pondría el medio ennegrecido)	~
Motilidad	Negativa	Figura 39
Urea	Negativa	Figura 40
Indol	Positivo or Negativo	~
Agar hierro lisina (AHL)	K/A (cuña púrpura / botón amarillo) <sup>b</sup>	Figura 41

<sup>a</sup> K = alcalina (rojo); A = ácido (amarillo). Algunas cepas de *S. flexneri* serotype 6 y *S. boydii* producen gas a partir de glucosa.

<sup>b</sup> K = alcalina (púrpura); A = ácido (amarillo). Una reacción alcalina (púrpura) en la cuña del medio indica que la lisina fue descarboxilada. Una reacción ácida (amarillo) en el fondo indica que la lisina no fue descarboxilada.





**Img.15 Apariencia de Colonias de *Shigella spp* en medios Selectivos en placa**

Medio selectivo de agar	Color de las colonias	Tamaño de las colonias	Figura ( número)
agar MacConkey (AMC)	Sin color	2 – 3 mm <sup>1b</sup>	Figura 88
desoxicolato xilosa lisina (DXL)	Rojo o sin color	1 – 2 mm <sup>1c</sup>	Figuras 85, 86 y 87
agar desoxicolato citrato (ADC)	Sin color	2 – 3 mm <sup>1</sup>	~
agar entérico de Hektoen (EH)	Verde	2 – 3 mm <sup>1</sup>	~

**Img.16**

**Agentes antimicrobianos que recomienda la OMS para usar en las pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos de aislamientos de *Shigella spp*.**

Agentes antimicrobianos para pruebas de susceptibilidad de aislamientos de <i>Shigella</i>	
Trimetoprima-sulfametoxazol (cotrimoxazol)	
Cloranfenicol	
Ampicilina	
Ácido nalidixico *	
* Si el aislamiento es resistente al ácido nalidixico, debe someterse a prueba de susceptibilidad a ciprofloxacino, y es probable que exhiba susceptibilidad reducida a dicho antibiótico	





**Img.17**

*Interpretación estándar del tamaño del diámetro de la zona de inhibición para Enterobacteriaceae (para ciertos discos de antimicrobianos apropiados para la prueba de Shigella spp).*

Agente antimicrobiano	Potencia del disco (µg)	Diámetro de la zona de inhibición (mm)			Límites del diámetro de la zona (mm) para la cepa CC de NCCLS <i>E. coli</i> ATCC 25922
		Susceptible [equiv CIM.]	Intermedio [equiv CIM.]	Resistente [equiv CIM.]	
Ampicilina	10 µg	≥ 17 mm (≤ 8 µg/ml)	14 – 16 mm (16 µg/ml)	≤ 13 mm (≥ 32 µg/ml)	16 – 22 mm
Cloranfenicol	30 µg	≥ 18 mm (≤ 8 µg/ml)	13 – 17 mm (16 µg/ml)	≤ 12 mm (≥ 32 µg/ml)	21 – 27 mm
Trimetoprima-sulfametoxazol (cotrimoxazol)	1,25 / 23,75 µg	≥ 16 mm (≤ 2/38 µg/ml)	11 – 15 mm (4/76 µg/ml)	≤ 10 mm (≥ 8/152 µg/ml)	23 – 29 mm
Acido nalidixico	30 µg	≥ 19 mm (≤ 8 µg/ml)	14 – 18 mm (16 µg/ml)	≤ 13 mm (≥ 32 µg/ml)	22 – 28 mm
Ciprofloxacino	5 µg	≥ 21 mm (≤ 1 µg/ml)	16 – 20 mm (2 µg/ml)	≤ 15 mm (≥ 4 µg/ml)	30 – 40 mm

Fuente: NCCLS (2002). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twelfth Informational Supplement. NCCLS document M100-S12 [ISBN 1-56238-454-6]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087, EUA.

**Img.18 Taxonomía de Shigella spp.**

TAXONOMIA DEL GENERO <i>Shigella</i> spp					
Género	Especies (serogrupo)	Serotipos	Subtipo	Fases	Ejemplo
<i>Shigella</i>	dysenteriae (A)	1,2,3,4,5,6,7,8, 9,10,11,12,13			<i>S. dysenteriae</i> 1
<i>Shigella</i>	flexneri (B)	1,2,3,4,5,6	a, b		<i>S. flexneri</i> 2a
<i>Shigella</i>	boydii (C)	1,2,3,4,5,6,7,8, 9,10,11,12,13, 14,15,16,17,18			<i>S. boydii</i> 14
<i>Shigella</i>	sonnei (D)	Un sólo serotipo		Fase I lisa virulenta Fase II rugosa avirulenta	<i>S. sonnei</i> fase I





**Img.19 Características Bioquímicas Diferenciales de Especies Shigella spp.**

Espece	ONPG	Ornitina descarboxilasa
<i>S. dysenteriae</i>	Negativa	Negativa
<i>S. flexneri</i>	Negativa	Negativa
<i>S. boydii</i>	Negativa	Negativa
<i>S. sonnei</i>	Positiva	Positiva

**Img.20 Características Bioquímicas Diferenciales entre Shigella spp y Escherichia coli.**

Prueba bioquímica	Shigella	Escherichia coli inactiva
Actato de sodio	Negativa	Positiva
Citrato de sodio	Negativa	Positiva
Mucato	Negativa	Positiva

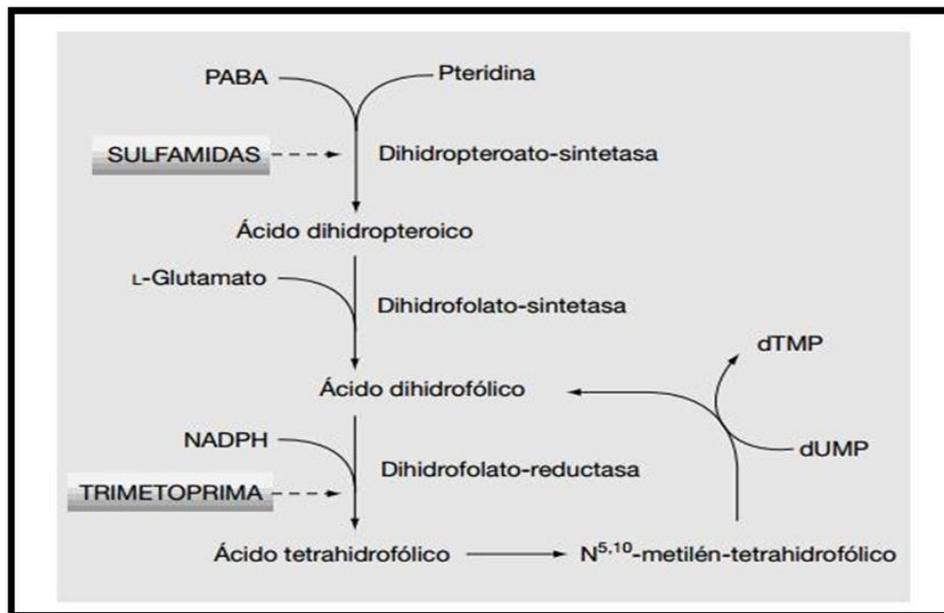




**Img.21 Características Bioquímicas de Especies de Shigella spp.**

ESPECIE	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. boydii</i>	<i>S. sonnei</i>
Serogrupo	A	B	C	D
Indol	+	+	+	-
Manitol	-	+	+	+
Ornitina decarboxilasa	-	-	-	+
Tartrato de Jordan	-	-	-	+

**Img. 22 Mecanismos de Acción Antibacteriana de las Sulfamidas y SXT**





**Img.23 Actividad Antibacteriana de SXT y Cotrimoxazol en Vitro**

**Tabla 68-7. Actividad antibacteriana de trimetoprima, sulfametoxazol y cotrimoxazol *in vitro*: intervalos de CMI ( $\mu\text{g/ml}$ )**

Microorganismo	Sulfamida	Trime-toprima	Trimetoprima/ sulfameto- xazol ( $\mu\text{g/ml}$ : 1/20)
<b>Grampositivos</b>			
<i>Staphylococcus aureus</i>	8-64	0,15-2	0,04-1,6
<i>Streptococcus pneumo-niae</i>	4-128	0,004-5	0,05-1,5
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0,5-16	0,02-1	0,015-0,4
<i>Enterococcus faecalis</i>	25-250	0,15-0,5	0,015-0,4
<i>Corynebacterium diph-theriae</i>	25-75	0,15-0,5	0,015-0,4
<i>Listeria monocytogenes</i>	3-75	0,05-1,5	0,015-0,15
<i>Bacillus anthracis</i>	12-100		
<i>Clostridium perfringens</i>		2-50	
<i>Propionibacterium acnes</i>		0,07	
<b>Gramnegativos</b>			
<i>Escherichia coli</i>	4-64	0,01- > 5	0,005- > 5
<i>Klebsiella spp</i>	8-128	0,15-0,5	0,05-3,1
<i>Proteus mirabilis</i>	8-128	0,15-1,5	0,05-0,15
<i>Serratia marcescens</i>	25- > 1.000	0,8-50	0,4-50
<i>Salmonella sp</i>	16-128	0,01-0,4	0,05-0,15
<i>Shigella sp</i>	2-32	0,04-0,8	0,02-0,5
<i>Haemophilus influenzae</i>	1-16	0,1-12,5	0,04-50
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	4-32	0,2-128	0,15-3,1
<i>Neisseria meningitidis</i>	0,25- > 100	3,1-50	0,01-1,6
<i>Pseudomonas aerugi-nosa</i>	> 100-200	50-1.000	3,1-100
<i>Citrobacter freundii</i>		0,2	
<i>Vibrio cholerae</i>		0,2	





### Img.24 Interacciones de las Quinolonas

1.º Fármaco	2.º Fármaco	Efecto
Ácidos nalidíxico, oxolínico, pipemídico y piromídico	Alcalinos	Incrementan las concentraciones séricas y urinarias de las quinolonas
Ácido nalidíxico	Anticoagulantes (warfarina)	Incremento de la warfarina libre Mayor efecto anticoagulante
Quinolonas orales	Hidróxido de aluminio o magnesio	Disminuye la absorción de quinolonas
	Metoclopramida	↑ Motilidad intestinal, ↓ tiempo de vaciado del estómago, ↑ t <sub>máx</sub>
Ácido pipemídico Enoxacino Ciprofloxacino	Probenecida	↓ Excreción, ↑ semivida
	Teofilina	↓ Aclaramiento teofilina, ↑ semivida

### Img.25 Actividad Antibacteriana de los Aminoglucósidos y Glucopéptidos

	CMI (µg/ml)			
	Gentamicina	Tobramicina	Amikacina	Netilmicina
<b>BACTERIAS GRAMPOSITIVAS</b>				
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,03-0,12	0,12-0,25	0,4-3,1	0,05-0,8
<i>Streptococcus pyogenes</i>	16		12,5	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	16,0-32,0		12,5	
<i>Enterococcus faecalis</i>	2,0-4,0	2,0-8,0		3,1-25
<b>BACTERIAS GRAMNEGATIVAS</b>				
<i>Escherichia coli</i>	0,25-1,0	0,25-1,0	1,6-3,1	0,2-6,3
<i>Klebsiella aerogenes</i>	1,0-2,0			
<i>Klebsiella spp</i>	0,06-1,0	0,25-1,0	1,6-3,1	0,2-6,3
<i>Proteus mirabilis</i>	0,25-2,0	1,0-4,0	3,1	0,2-25
<i>Proteus vulgaris</i>	1,0-4,0		1,6	0,2-12,5
<i>Proteus morganii</i>	1,0-4,0		3,1	
<i>Proteus rettgeri</i>	1,0-8,0		1,6	
<i>Salmonella spp</i>	0,25-1,0			0,2-1,6
<i>Shigella spp</i>	1,0-2,0			0,2-1,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,25-2,0	1,0-4,0	1,6-12,5	0,2-12,5
<i>Serratia marcescens</i>	0,25-0,5	1,0-4,0	0,8-3,1	0,4-50
<i>Providencia stuartii</i>			0,8-3,1	0,4-25
<i>Enterobacter</i>			0,8-3,1	0,2-6,3





**Img. 26 Medios Primarios Para Coprocultivos e Interpretación del Crecimiento**

**Cuadro 3.** Medios de cultivo primarios para coprocultivos e interpretación del crecimiento.

Medio	Aislamiento esperado	Morfología colonial
<b>Diferencial</b>		
MacConkey	Gram- negativos entéricos	Incoloras o rosadas
Eosina- Azul de metileno (Levine)	Gram- negativos entéricos	Incoloras o ligeramente púrpura
<b>Moderadamente selectivos</b>		
Tergitol-7	Gram-negativos entéricos	Amarillas (coliformes), azules ( <i>Salmonella-Shigella</i> )
Hektoen	Salmonella – Shigella	Azul o verde, con o sin centro negro
Xilosa- lisina-desoxicolato(XLD)	Patógenos entéricos	Rojas con o sin centro negro.
Salmonella- Shigella (SS)	<i>Salmonella- Shigella</i>	Incolora con o sin centro negro
<b>Altamente selectivos</b>		
Verde brillante (VB)	Salmonella	Rojas o rosadas
Bismuto sulfito (BS)	Salmonella	Negras, café, o verdes, con o sin brillo metálico alrededor
<b>Otros</b>		
Agar sangre (AS)	Predominio de <i>Staphylococcus</i> , levaduras y <i>Pseudomonas</i>	Según especie.
TCBS	<i>Vibrio sp.</i>	Amarillas o verdes
AS- Ampicilina	<i>Aeromonas sp.</i>	Hemolíticas
Agar- Campy	<i>Campylobacter sp.</i>	Convexas a mucoides, color gris a rosado





**Img. 27 Procedimiento del Aislamiento e Identificación de Shigella**

<p>A partir del cultivo obtenido en el preenriquecimiento sembrar, por duplicado, con asa de cultivo sobre:</p>	
<p><b>Agar Salmonella-Shigella (S-S)</b></p>	
<p><b>Agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato (Xylose Lysine Desoxycholate: XLD)</b></p>	
<p><b>Agar MacConkey</b></p>	





**AGAR SALMONELLA–SHIGELLA (S–S): CRECIMIENTO CARACTERÍSTICO** (Hacer clic sobre cada placa para aumentar)

Las **colonias sospechosas** de *Shigella* crecidas en Agar *Salmonella–Shigella* son transparentes, translúcidas u opacas y suelen ser lisas. En este medio las colonias de otros microorganismos que fermentan la lactosa (coliformes) son colonias rojizas y en muchos casos mucoides.



**COLONIAS SOSPECHOSAS**

**AGAR XILOSA-LISINA-DESOXICOLATO (XLD): CRECIMIENTO CARACTERÍSTICO** (Hacer clic sobre cada placa para aumentar)

Las **colonias sospechosas** de *Shigella* crecidas sobre Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD) son transparentes y del mismo color que el medio de cultivo (rojo).

Este género bacteriano al no fermentar la xilosa, la lactosa ni la sacarosa, no da lugar a que vire a amarillo el rojo fenol. Como tampoco descarboxilan la lisina, no se produce color rojo púrpura alrededor de las colonias, al no haberse producido cadaverina.



**AGAR MAC CONKEY: CRECIMIENTO CARACTERÍSTICO** (Hacer clic sobre cada placa para aumentar)

Las **colonias sospechosas** de *Shigella* en Agar MacConkey son incoloras y transparentes. En este medio las colonias de otros microorganismos que fermentan la lactosa (coliformes) son colonias rojizas.



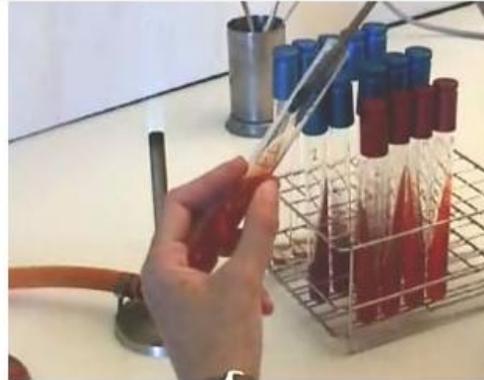
**COLONIAS SOSPECHOSAS**





Aislar, como mínimo, dos colonias con aspecto típico de *Shigella* de cada uno de los medios de aislamiento selectivo utilizados.

Sembrar cada colonia en Agar Hierro Triple Azúcar (TSA), con aguja de cultivo, primero en el fondo por picadura y luego, en la superficie inclinada por estría.



Sembrar, por picadura en el fondo y por estría en la superficie inclinada del medio Agar Lisina Hierro (LIA).



Sembrar, con asa de siembra en Caldo Urea.



Incubar los tubos de TSA y Urea a 37 °C durante 24 horas y los de agar LIA a 37 °C durante 24-48 horas.



## REACCIONES POSITIVAS DE LAS PRUEBAS BIOQUÍMICAS:

### AGAR TRIPLE-AZUCAR-HIERRO

*Shigella* da la siguiente reacción sobre TSI:

- Alcalina (rojo) en la superficie inclinada.
- Ácida (amarillo) en el fondo.
- Sin producción de SH<sub>2</sub> (sin ennegrecimiento del fondo del tubo).



Lactosa (-), Glucosa (+), SH<sub>2</sub> (-) con o sin gas

### AGAR LISINA-HIERRO

*Shigella* da la siguiente reacción sobre LIA:

- Alcalina (color púrpura) en la superficie inclinada.
- Ácida (amarillo) en el fondo.
- Sin Producción de SH<sub>2</sub> (ennegrecimiento del fondo del tubo).



LCD (-), SH<sub>2</sub> (-)

### CALDO UREA

Las *Shigella* no son capaces de utilizar urea.

El medio **urea** contiene un indicador de pH que vira a color rosa fuerte cuando la reacción es positiva.

La reacción debe ser negativa: urea (-).  
Permanece el mismo color que antes de la incubación



REACCIÓN NEGATIVA



REACCIÓN POSITIVA



Con las colonias seleccionadas en la identificación bioquímica inicial se efectúa lo siguiente:

A partir de los tubos positivos de TSI o LIA, sembrar una galería de identificación bioquímica partiendo de los cultivos seleccionados.



Habitualmente se hace una galería API 20E que consiste en 20 pruebas bioquímicas y que permite identificar el microorganismo al menos a nivel de Género y en muchos casos también a nivel de Especie.





## **BOSQUEJO**

***DEDICATORIA***

***AGRADECIMIENTO***

***RESUMEN***

***I. INTRODUCCION***

***II. JUSTIFICACION***

***III. OBJETIVO GENERAL Y OBJETIVOS ESPECIFICOS***

**Objetivo General**

**Objetivos Específicos**

***IV. MARCO TEORICO***

**4.1 Enterobacterias (Generalidades)**

**4.2 Características Microbiológicas de *Shigella spp*: Taxonomía**

**4.3 Patogénesis causada por *Shigella spp***

4.3.1 Adherencia, Invasión y Liberación Intracelular de *Shigella spp*

4.3.2 Factores de Patogenicidad

El plásmido de virulencia de *Shigella spp*

4.3.3 Diseminación Intracelular e Intercelular de *Shigella spp*

4.3.4 Invasión de la mucosa del colon por *Shigella spp*

4.3.5 Toxinas producidas por *Shigella spp*





Enterotoxina SenA:

Toxina de Shiga (Stx).

#### **4.4 Patologías causada por *Shigella spp***

4.4.1 Los Microorganismos como agentes patológicos transmitidos por alimento

#### **4.5 Métodos de Aislamiento e Identificación de *Shigella spp***

4.5.1 Muestras de Materia Fecal Provenientes de Pacientes

4.5.2 Selección, Recolección y Transporte de muestra

*Muestras aceptables*

*Muestras inadmisibles*

*Recolección de la muestra*

*Preservación y Transporte*

4.6.3 Medios de Enriquecimiento

#### **4.6 Medios de Cultivos empleados para el Aislamiento e Identificación de *Shigella spp* provenientes de una Muestra de Materia Fecal y Alimento**

4.6.1 Fundamentos para el Aislamiento e Identificación de *Shigella spp* en Alimentos y Materia Fecal.

1. Pre enriquecimiento:
2. Enriquecimiento selectivo:
3. Identificación bioquímica:
4. Serotipificación:

4.6.2 Fundamentos de los Medios de Cultivos

Agar Salmonella Shigella (AGAR SS):

Agar MAC Conkey:





Prueba en TSI (Triple Azúcar Hierro o Triple Sugar Iron por sus siglas en inglés):

Prueba en LIA (Lisina Hierro Agar o Lisine Iron Agar por sus siglas en inglés):

Prueba de MIO (Movilidad, Indol, Ornitina:

Prueba de Crecimiento en Citrato de Simmons:

Prueba de Hidrólisis de la Urea

Prueba de ONPG (Orto-Nitrofenil - $\beta$ -d-Galactopiranosido):

Prueba de Fermentación de Mucato:

Agar Desoxicolato Xilosa Lisina (DXL):

#### 4.6.3 Serotipificación:

### **4.7 Mecanismos de Resistencia de *Shigella spp* a los diferentes Antimicrobianos**

#### 4.7.1 Agentes antimicrobianos para el tratamiento y las pruebas de *Shigella spp*

#### 4.7.2 Mecanismos generales de Resistencia Bacteriana a los Antibióticos

#### 4.7.3 Mecanismo de Acción de los Antibióticos

##### Betalactámicos

Mecanismo de acción de Ampicilina

Mecanismo de acción de Tetraciclina

Mecanismo de acción de Cloranfenicol.

Mecanismo de acción de Quinolonas: Sulfamidas, Trimetoprim Sulfametoxazole, Acido nalidíxico,

Mecanismo de acción de sulfamidas

Mecanismo de acción de Trimetoprim - Sulfametoxazole

Mecanismo de acción de Ácido nalidíxico

Mecanismo de acción de Cotrimoxazol





**V. CONCLUSION**

**VI. BIBLIOGRAFIA**

**VII. GLOSARIO**

**IIIX. ANEXOS**



