

ALGUNOS PROBLEMAS DE ORIGEN GENETICO EN BACTERIOLOGIA MEDICA

I

RELACIONES ENTRE INFECCION Y ALTERACIONES DE LOS CROMOSOMAS¹

DR. GERARDO VARELA,^{2,3} Q.B.P. ANGEL CABALLERO-SERVÍN³

Por experimentos realizados *in vitro* e *in vivo* por numerosos investigadores, ha quedado demostrado que los virus, provocan alteraciones en los cromosomas tanto del hombre como de los animales. En el presente trabajo se aborda el estudio de un microorganismo distinto a los virus, que es el *Toxoplasma gondii*, parásito estricto de vida intracelular, el cual en determinadas circunstancias, puede ser el causante de malformaciones congénitas en los seres humanos. Se sabe también, que este protozoario en su metabolismo, elabora diversas sustancias, que pueden dañar el material genético de su huésped. Así, al dejar actuar a *Toxoplasma gondii*, sobre cultivos de leucocitos humanos, los cromosomas sufren alteraciones, tanto en su número como en su estructura. (GAC. MÉD. MÉX. 98: 619, 1968).

DE ACUERDO con los conceptos modernos de la genética, puede decirse que todas las enfermedades, se consideran como una representación espectral de la importancia que en su etiología, tienen los factores genéticos y no genéticos.

En un extremo se encuentran las enfermedades en que predomina un fon-

do genético, pero que pueden ser influenciadas, por factores ambientales; en este caso podemos citar los síndromes de Down, Turner, Klinefelter, etc. En el otro extremo del espectro, tenemos la hipertensión, la aterosclerosis y la úlcera péptica, donde predominan los factores ambientales, aunque también pueden estar presentes los de la herencia.

Es evidente que existe una base genética en numerosos trastornos conocidos o raros, en los que se alteran pro-

¹ Trabajo de sección presentado en la sesión ordinaria del 11 de octubre de 1967.

² Académico numerario.

³ Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales, Dirección de Investigación en Salud Pública, S.S.A.

cesos bioquímicos básicos o enzimáticos de la célula, produciéndose con estos desequilibrios intracelulares, alteraciones multifactoriales que se revelan en el fenotipo de los seres vivos.

En el hombre, como en otros organismos, el material genético se encuentra en los cromosomas. Tjio y Levan¹ establecieron que el número total de cromosomas en la especie humana es de: $2N = 46$.

A la fecha es bien conocido que los cromosomas pueden sufrir numerosas alteraciones, tanto en su número como en su estructura y que éstas implican cambios en los mecanismos de la herencia.

En esta exposición, nos referiremos fundamentalmente a las anomalías estructurales de los cromosomas, ya que según se ha visto, tienen relación con algunas infecciones causadas por microorganismos. Así es como se ha hablado, de que numerosos virus ocasionan múltiples aberraciones cromosómicas.

Hampar y Ellison,² trabajando con virus del *Herpes simple*, provocaron alteraciones en los cromosomas de células de hamster. Salazar-Mallén y colaboradores,³ experimentando con el virus de la rabia en cultivos de leucocitos humanos, observaron alteraciones en los cromosomas, tales como: roturas del centrómetro, cromosomas en torsión, heteroploidosis, etc.

En trabajos realizados *in vivo* en animales, se citan algunos que han llamado la atención por su significado en relación con las infecciones por virus. Inoculando a marmotas recién nacidas con virus del sarcoma de Rous, Dein-

hard,⁴ provocó el desarrollo de sarcomas, de los cuales efectuó estudios citogenéticos, encontrando numerosas aberraciones cromosómicas, las que demuestran el efecto citopático del virus. Estudios similares se han llevado a cabo en pollos, con el mismo virus, por Ponten.⁵

En humanos los resultados han sido contradictorios, ya que Wiedemann⁶ informa haber encontrado alteraciones en los cromosomas de un niño cuya madre había padecido rubeola en el segundo mes del embarazo. Sin embargo, New y cols.,⁷ en condiciones análogas, no observaron tales anomalías.

Por otra parte, Aula⁸ dice haber encontrado, en casos de viruela y sarampión, hasta el 17 y 28% de metafases con alteraciones estructurales en los cromosomas.

Continuando con las infecciones por virus se citan las investigaciones realizadas por Matsaniotis,⁹ sobre hepatitis infecciosa, en las que se describe las anomalías cromosómicas en cinco niños de ocho estudiados, con hepatitis por virus.

Se ha especulado también sobre que el virus de la hepatitis está relacionado con el síndrome de Down. Así, Stoller y Coleman,¹⁰ efectuando estudios estadísticos en Australia, señalan una relación entre los casos de hepatitis infecciosa y los nacimientos con síndrome de Down. Tratando de comprobar esta hipótesis, Stark,¹¹ en los Estados Unidos, no encontró la relación anterior.

Así pues, el panorama que se observa respecto a las enfermedades infec-

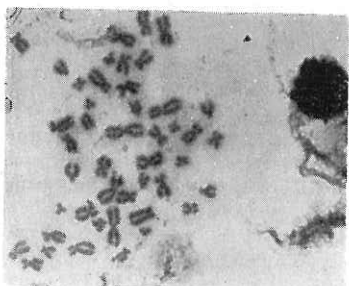


Fig. 1. Metafase con 45 cromosomas por la acción de *Toxoplasma gondii*.

ciosas que pueden inducir alteraciones en los cromosomas de los organismos superiores, al parecer sólo han tenido comprobación en el laboratorio las infecciones virales.

En este trabajo se informa de los hallazgos obtenidos con un microorganismo distinto a los virus, que es *Toxoplasma gondii*, parásito estricto de vida intracelular.

De los datos recogidos de la bibliografía y de nuestras experiencias, se sabe que *Toxoplasma gondii*, en los humanos, es capaz de provocar malformaciones congénitas, especialmente en los hijos de mujeres infectadas con este protozoo, que tiene la facultad de atravesar placenta, llegar hasta el producto y lesionarlo. En este caso particular, el daño que pudiera causar *Toxoplasma gondii*, está en función del grado de evolución del embrión o del feto.

Silverman y Varela,¹² han empleado la prueba de Cerletti y Berde, en el diagnóstico de toxoplasmosis, en líquido cefalorraquídeo de enfermos menta-

les. La prueba se fundamenta en la producción de la dietilamida del ácido d-lisérgico, o bien de otra sustancia muy similar, producida por *Toxoplasma gondii*, y en la que se usa el pez *Lebistes reticulatus*, hembra.

Por otra parte, se ha hablado recientemente, que numerosas drogas, producen malformaciones congénitas e incluso inducen alteraciones en el material genético, como sucede con el ácido d-lisérgico, que al decir de Cohen,¹³ en cultivos de leucocitos humanos, es capaz de inducir numerosas aberraciones en los cromosomas.

En otros estudios efectuados in vivo, Irwin y Egoscue¹⁴ encontraron que en sujetos que habían estado bajo la influencia de dietilamida del ácido lisérgico por un tiempo determinado, existían numerosas aberraciones en los cromosomas de sangre periférica.

El hecho de que *Toxoplasma gondii*, en su metabolismo elabore esta

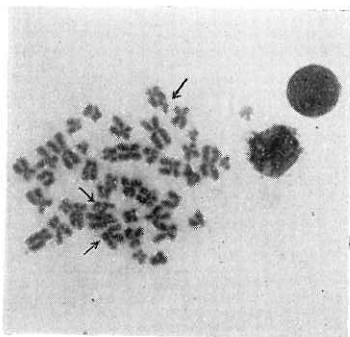


Fig. 2. Alteraciones estructurales de cromosomas humanos, inducidas en cultivo por *Toxoplasma gondii*. Traslocación y deleciones.

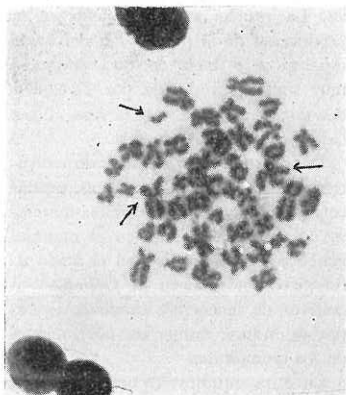


FIG. 3. Alteraciones estructurales de cromosomas humanos, inducidas en cultivo por *Toxoplasma gondii*. Delecciones.

sustancia o bien otro compuestos similar, ha inducido a pensar a los autores que las malformaciones congénitas que produce sean motivadas por esta sustancia aún no identificada plenamente.

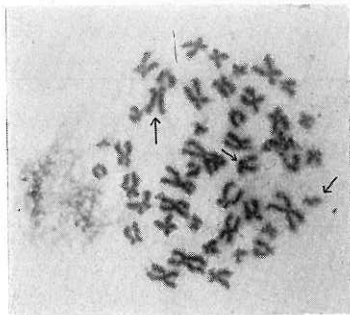


FIG. 4. Alteraciones estructurales de cromosomas humanos, inducidas en cultivo por *Toxoplasma gondii*. Rotura del centrómero y delecciones.

En base a ello, se decidió realizar los siguientes experimentos.

MATERIAL Y MÉTODOS

A. Se inocularon ratones blancos de aproximadamente 20 grs. de peso, con *Toxoplasma gondii*; a los cuatro días, cuando los ratones se encontraban gravemente enfermos por toxoplasmosis, se sacrificaron y se les extirpó el bazo, por ser este órgano rico en quistes

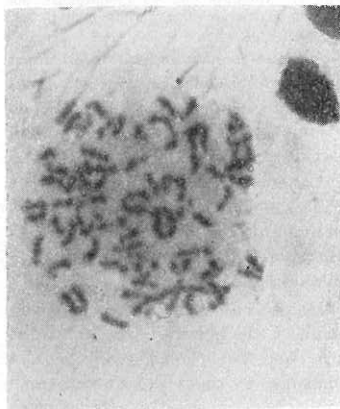


FIG. 5. Alteraciones estructurales de cromosomas humanos, inducidas en cultivo por *Toxoplasma gondii*. Pulverización.

de *Toxoplasma gondii*. El bazo fue molido y resuspendido en 5 ml. de medio de cultivo T C. 199. Difco; esta suspensión de bazo, se agregó a cultivos de leucocitos humanos de 72 hs. de desarrollo, dejando actuar a *Toxoplasma gondii*, por un tiempo de 6 hs., después de las cuales se interrumpió el crecimiento con colchicina; seguida-



FIG. 6. Alteraciones estructurales de cromosomas humanos, inducidas en cultivo por *Toxoplasma gondii*. Heteroploidosis.

mente los cromosomas se obtuvieron por la técnica de Hungerford y col.¹⁵

B. Fue efectuado otro experimento similar, en el que se usó el filtrado libre de células, de un cultivo de 72 hs., de bazo de ratón conteniendo *Toxoplasma gondii*, ya que se considera que es en el medio acuoso, donde quedan las sustancias de acción citopática elaboradas por este protozario. El cultivo del bazo conteniendo toxoplasmas, se hizo en el medio TC 199 (Difco), enriquecido con glucosa, ácido fólico y suero de ratón.

Los estudios anteriores, se hicieron

con tres testigos, dos de ellos con molido y filtrado de bazo de ratón sano, y otro de leucocitos humanos para obtener cromosomas normales.

Todos los experimentos en su conjunto fueron efectuados por diez ocasiones y en cada oportunidad, se analizaron cien metafases para los problemas y cien para cada testigo.

RESULTADOS

En los cultivos de leucocitos humanos a los que se adicionó molido de bazo de ratón conteniendo toxoplasmas, así como filtrado de cultivo del mismo órgano infectado, las células presentaron numerosas anomalías en los cromosomas, tanto en su número como en su estructura. Sin embargo, en los testigos las alteraciones fueron mínimas cayendo dentro de lo normal.

La proporción de metafases anormales en los problemas osciló entre el 30 y 50%.

Los mosaicismos observados fueron de 40 a 46 cromosomas y las aberraciones estructurales que con mayor frecuencia se presentaron fueron: dele-

TABLA 1

CULTIVOS DE LEUCOCITOS HUMANOS DE 72 HORAS DE EVOLUCION

Características	% de metafases anormales
Con molido de bazo de ratón conteniendo quistes de <i>Toxoplasma gondii</i>	35-48
Con filtrado libre de células, de un cultivo de 72 hs. de bazo de ratón infectado con <i>Toxoplasma gondii</i>	30-50
Molido de bazo de ratón sano. (Testigos)	2-3
Filtrado de cultivo de 72 hs., de bazo de ratón sano. (Testigos)	1-3
Cultivo de leucocitos humanos. (Testigos)	0-1

TABLA 2

TIPO DE ANORMALIDADES PRODUCIDAS EN CULTIVOS DE CROMOSOMAS HUMANOS, POR *TOXOPLASMA GONDII*

	%
Deleciones	10-15
Traslocaciones	8-10
Roturas del centrómero	5-8
Heteroploidosis	10-12
Pulverización	2-5
Total	35-50%

ciones, roturas del centrómero, traslocaciones, pulverización y heteroploidosis; esta última, en los primeros ensayos se le consideró como una forma de prometáfase, pero dada la frecuencia con que aparecía en los cultivos problema, se tomaron como formas heteroploidóticas.

En las tablas 1 y 2, se presenta la síntesis del trabajo, y en las figuras del 1 al 6, se pueden apreciar los cromosomas con las anomalías más frecuentes causadas por *Toxoplasma gondii*.

DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos, queda de manifiesto que *Toxoplasma gondii* in vitro, lesiona el material genético de las células humanas. El criterio que sustentamos a este respecto, es que el parásito elabora en su metabolismo, sustancias de efecto citopático y que bien pudiera ser una de ellas la dietilamida del ácido d-lisérgico, ya que la reacción con el pez *Lebistes reticulatus*, parece demostrar su existencia. En este sentido la acción de *Toxoplasma gondii*, sobre los cromosomas, es distinta a la de los virus.

SUMMARY

Experiments made by many investigators have demonstrated that virus cause changes in the chromosomes in man and in experimental animals. These studies have been carried out "in vivo" and "in vitro". This paper undertakes to show that a microorganism that is not a virus, but an intracellular parasite, *Toxoplasma gondii*, in certain circumstances may cause congenital malformations in human beings. It is known that this protozoar elaborates certain substances capable of harming its host's genetical component. Having *Toxoplasma gondii* act on human leucocyte cultures, chromosomes show changes, in number and in structure.

REFERENCIAS

1. Tjio, J., y Levan, A.: *The chromosome number of man*. Hereditas. 42: 1, 1956.
2. Hampar, B. H. y Ellison, S. A.: *Chromosomal aberration induced by an animal virus*. Nature. 192: 145, 1961.
3. Salazar-Mallén, M., Ruiz Gómez, J. y Amezcua-Chavarria, M. E.: *Utilización de los cromosomas humanos para el conocimiento del efecto citopático de virus de la rabia*. Rev. Invest. Salud Públ. (Méx.) XXVI: 205, 1966.
4. Deinhardt, F.: *Rous sarcoma virus: Induction of neoplasms in New World nonhuman primates. (Symposia)*. IX International Congress For Microbiology. Moscow. USSR, 1966.
5. Ponten, J.: *Chromosome analysis of three virus-associated chicken tumors: Rous sarcoma, erythroleukemia and RPL12 lymphoid tumor*. J. Nat. Cancer Inst. 30: 897, 1963.
6. Wiedemann, H. R.: *Chromosomes in Gregg's syndrome*. Lancet: 1: 721, 1964.
7. Neu, R. L., Schlegel, R. J., Carneiro Leao, J. y Gardner, L. L.: *Chromosome of faetus following maternal rubella*. Lancet. ii: 1185, 1964.
8. Aula, P.: *Chromosome and viral infections*. Lancet i: 720, 1964.

9. Matsaniotis, N., Kiossoglou, K. A., Maounis, F. y Anagnostakis. *Lancet*. ii: 1421, 1966.
10. Stoller, A. y Coleman, H.: *Incidence of infective hepatitis followed by Down's syndrome nine months later*. *Lancet* ii: 1221, 1965.
11. Stark, Ch. y Fraumeni, J. F.: *Viral hepatitis and Down's syndrome*. *Lancet*. i: 1036, 1966.
12. Silverman, B. y Varela, G.: *Toxoplasmosis, mental diseases and L.S.D.* 25. *Rev. Inst. Salub. Enferm. Tropicales*. XVIII: 191, 1958.
13. Cohen, M., Marinello, M. J. y Back, N.: *Chromosomal damage in human leukocytes induced by lysergic acid diethylamide*. *Science*. 155: 1417, 1967.
14. Irwin, S. y Egoscue, J.: *Chromosomal anomalies from L.S.D. 25 users*. *Science*. 157: 313, 1967.
15. Hungerford, D. A., Donnelly, A. J., Nowel, P. G. y Beck, S.: *The chromosome constitution of human phenotypic intersex*. *Amer. J. Hum. Genet.* 11: 215, 1959.

II

DESARROLLO DE RESISTENCIA DEL GRUPO *SHIGELLA* A LOS ANTIBIOTICOS OBSERVADA EN LA CIUDAD DE MEXICO EN EL CURSO DE LOS ULTIMOS 15 AÑOS. NATURALEZA GENETICA DEL FENOMENO Y SU IMPORTANCIA PRACTICA¹

DRES. JORGE OLARTE^{2, 3} Y EMMA GALINO³

AL PRESENTE es un hecho bien establecido, la observación de que el uso de los antibióticos y otros agentes antibacterianos trae como consecuencia, en un plazo variable, el desarrollo de grandes poblaciones microbianas resistentes a los mismos. El proceso abarca tanto gérmenes de la flora llamada normal, como una proporción importante de las bacterias patógenas.

El fenómeno de la resistencia presenta interés particular en el caso de los diferentes grupos de microorganismos de origen intestinal, desde un punto de

vista práctico, por los problemas y dificultades que la resistencia origina en el tratamiento de estas infecciones, así como desde un punto de vista puramente científico, dados los mecanismos genéticos fascinantes que determinan y regulan el desarrollo de la resistencia.

De todos los agentes microbianos conocidos, capaces de producir enteritis o diarrea en el hombre, el grupo *Shigella* ocupa el primer lugar por su frecuencia, tanto en México como en muchos otros países.^{1, 2} Desde hace más de 16 ó 17 años se observó la aparición creciente, en la ciudad de México, de cultivos de *Shigella* resistentes a las sulfonamidas, sustancias que habían

¹ Trabajo de sección presentado en la sesión ordinaria del 11 de octubre de 1967.

² Académico numerario.

³ Hospital Infantil de México.

jugado hasta entonces un papel importante en el tratamiento de estas infecciones.^{3, 4, 5} En 1959⁶ llamamos la atención acerca de la aparición, igualmente progresiva, de *Sh. flexneri* resistente a las tetraciclinas, cloranfenicol y estreptomycin, fenómeno que ha persistido hasta el momento, siendo el objeto del presente trabajo hacer un resumen de los resultados obtenidos en el curso de los últimos 15 años.

MATERIAL

Se estudiaron 452 cultivos de *Shigella*, pertenecientes a los siguientes subgrupos: *Sh. dysenteriae* 22 cepas, *Sh. flexneri* 354 cepas, *Sh. boydii* 23 cepas y *Sh. sonnei* 53 cepas. Todos los cultivos fueron aislados del hombre, en la ciudad de México, durante el periodo comprendido entre los años de 1953 y 1967. La gran mayoría de las cepas provienen de niños con diarrea, atendidos en el Hospital Infantil de México.

Dado que en trabajos anteriores^{6, 7, 8} hemos visto que no hay diferencia importante entre la respuesta "in vitro" de los gérmenes pertenecientes a los diferentes subgrupos y tipos serológicos de *Shigella*, para los distintos antibióticos probados, en el presente estudio nos referiremos al grupo en forma global.

MÉTODOS

Dilución en placa. Se usaron soluciones, recientemente preparadas, de estreptomycin, tetraciclina y cloranfenicol, habiéndose tomado en cuenta úni-

camente la concentración final de 10 mcg/ml. Se utilizó el medio de cultivo "infusión de cerebro y corazón" (Difco), con agar al 1.5%, y se siguió el método de dilución en placa, descrito previamente.⁶

Cada placa fue inoculada con un cultivo en caldo de tres horas, y las estrías se practicaron con un hisopo estéril. A su vez, este cultivo utilizado como inóculo se preparó mediante la siembra de 0.1 ml de un cultivo de 20 horas en 10 ml de caldo.

Se tomó como resistentes aquellas cepas que mostraron desarrollo a las 20 horas de incubación a 37°C, en presencia del antibiótico a la concentración de 10 mcg/ml.

Difusión en agar. Se utilizaron discos de neomicina (30 mcg) y de furazolidona (100 mcg), preparados por Baltimore Biological Laboratory, Baltimore, y de ampicilina (30 mcg) y de Hetacilina* (15 mcg), suministrados por Bristol Laboratories, Syracuse, todos con diámetro de 6 mm.

Cultivos frescos de cada una de las cepas estudiadas, fueron sembrados en 3 ml de medio líquido de "infusión de cerebro y corazón" (BBL), e incubados a 37°C durante 3 a 4 horas, hasta obtener ligera turbidez. Por medio de hisopos de algodón estériles, impregnados en este caldo, se procedió a extender el inóculo en placas de gelosa "infusión de cerebro y corazón" (BBL). Se permitió que el inóculo se absorbiera en el medio sólido y después de 15 a 30 minutos se colocaron los discos.

* Hetacilina: nuevo antibiótico derivado del ácido 6-aminopenicilánico⁹.

Las placas fueron incubadas a 37°C, de 18 a 20 horas, al cabo de las cuales se observó si había inhibición o no del desarrollo de los gérmenes, alrededor de los discos. Fueron considerados como resistentes aquellos cultivos en los que la zona de inhibición tenía un diámetro menor de 12 mm, o no se observaba inhibición.

RESULTADOS

Resistencia a la tetraciclina, cloranfenicol y estreptomycin.

Como se ve en la tabla 1, todas las cepas de *Shigella* aisladas en 1953 se mostraron sensibles a la tetraciclina. Sin embargo, en 1955 el 19% de los cultivos fue resistente. Esta proporción de cepas resistentes continuó en au-

mento, llegando a su máximo (43%) en 1960. Posteriormente, durante un periodo de 7 años (1961-1967), el fenómeno de la resistencia se ha mantenido a un nivel aparentemente estable (30 a 36%).

En el caso del cloranfenicol, los resultados son parecidos. En 1953 todas las cepas de *Shigella* probadas fueron sensibles al mismo. En 1955, 1956 y 1957 aparecieron cultivos resistentes (8, 7 y 3%, respectivamente). A partir de 1959 se observa un aumento sostenido del número de cepas de *Shigella* resistentes al cloranfenicol, llegando al 35% en 1967.

En cuanto a la estreptomycin, durante todo el periodo de estudio se encontró una proporción elevada de cepas de *Shigella* resistentes, la que osciló entre el 39 y el 74%.

TABLA 1

RESISTENCIA A LA TETRACICLINA, CLORANFENICOL Y ESTREPTOMICINA, DE 452 CULTIVOS DE *SHIGELLA* AISLADOS EN LA CIUDAD DE MEXICO, DURANTE LOS AÑOS DE 1953 A 1967. METODO DE DILUCION EN PLACA

Año	Nº de cepas estudiadas	Por ciento de cepas resistentes a 10 mcg/ml. ó más del antibiótico que se indica		
		Tetraciclina	Cloranfenicol	Estreptomycin
1953	31	0	0	74
1955	26	19	8	50
1956	41	34	7	39
1957	33	39	3	39
1959	71	38	21	63
1960	44	43	20	73
1961	41	34	27	41
1962-1964	53	36	32	53
1965	57	30	19	61
1967	55	35	35	58

TABLA 2

DISTRIBUCION DE LOS CULTIVOS DE *SHIGELLA* QUE MOSTRARON RESISTENCIA SIMPLE (RESISTENTES A UN SOLO ANTIBIÓTICO) Y RESISTENCIA MÚLTIPLE (RESISTENTES A VARIOS ANTIBIÓTICOS A LA VEZ), DURANTE LOS AÑOS DE 1953 A 1967

Año	Nº de cepas estudiadas	Por ciento de cultivos resistentes a 10 mcg/ml. o más del antibiótico, o combinaciones de antibióticos que se indica							
		Resistencia simple			Resistencia múltiple				
		E	T	C	E,T	E,C	T,C	E,T,C	
1953	31	74	0	0	0	0	0	0	
1955-1957	86	12	0	0	27	2	0	6	
1959	71	23	0	0	20	4	0	17	
1960	44	32	0	0	22	0	0	22	
1961	39	13	0	0	5	0	3	23	
1962-1964	53	15	0	0	6	2	0	30	
1965	57	32	3	0	11	2	0	18	
1967	55	15	0	0	9	7	0	27	

E: estreptomycin, T: tetraciclina, C: cloranfenicol.

Resistencia simple y "resistencia múltiple".

Cierta proporción de los cultivos de *Shigella* (tabla 2), variable en los distintos años, mostró resistencia simple a la estreptomycin, o sea, única para este antibiótico, siendo sensibles a los demás antibióticos probados. Sólo una mínima parte de las cepas de *Shigella* (el 3% en 1965) presentó resistencia simple o única para la tetraciclina. Ninguno de los cultivos de *Shigella*

mostró resistencia simple al cloranfenicol.

La mayoría de las cepas de *Shigella* resistentes, aisladas a partir de 1955, mostraron "resistencia múltiple", o sea resistentes simultáneamente a los 3 antibióticos probados, o por lo menos a 2 de ellos, en diferentes combinaciones. El tipo más común de "resistencia múltiple" correspondió a la resistencia triple (E, T, C) para la estreptomycin, tetraciclina y cloranfenicol, habiendo variado entre el 6 y el 30% del total

TABLA 3

RESISTENCIA A LA NEOMICINA, AMPICILINA, HETACILINA Y FURAZOLIDONA, DE 55 CULTIVOS DE *SHIGELLA* AISLADOS EN LA CIUDAD DE MEXICO EN 1967. METODO DE DIFUSION

Antimicrobiano	Concentración del disco en mcg.	No. de cepas resistentes	Por ciento de cepas resistentes
Neomicina	30	7	12.7
Ampicilina	30	3	5.4
Hetacilina	15	1	1.8
Furazolidona	100	0	0.0

de cepas de *Shigella* estudiadas, con cifras elevadas a partir de 1959. En segundo lugar (20 a 27%), y particularmente durante el periodo de 1955 a 1960, se presentó la resistencia doble (E, T) para estreptomycin y tetraciclina. Sólo esporádicamente y en proporción baja, se encontró resistencia doble (E, C) para estreptomycin y cloranfenicol. La resistencia doble (T, C) a tetraciclina y cloranfenicol. La resistencia doble (T, C) a tetraciclina y cloranfenicol fue excepcional (3% en 1961).

Resistencia a la neomicina, ampicilina, hetacilina y furazolidona.

Se probó la acción in vitro de estas 4 sustancias (tabla 3) únicamente en 55 cepas de *Shigella* aisladas en 1967. Se utilizó el método de difusión o de los discos.

Sólo el 12.7% fue resistente a la neomicina, el 5.4% a la ampicilina y el 1.8% a la hetacilina. Los 55 cultivos se mostraron sensibles a la furazolidona.

DISCUSIÓN

Es evidente que a partir de la época en que se generalizó el uso de las tetraciclinas y el cloranfenicol, se inicia la aparición de cultivos de *Shigella* resistentes a estos antibióticos,^{6, 7, 8} siendo en los primeros años más rápido el desarrollo de resistencia para las tetraciclinas que para el cloranfenicol. Después de 1962 el grado de resistencia alcanzado para los dos antibióticos es semejante, habiéndose detenido este incremento de la resistencia a niveles

que oscilan entre el 30 y el 36%, durante los últimos años. En el momento actual podemos considerar que aproximadamente una tercera parte de las cepas de *Shigella* aisladas en la ciudad de México, es resistente a las tetraciclinas y cloranfenicol.

Estudios cuidadosos, realizados principalmente en el Japón, país en el que tradicionalmente la shigelosis ha constituido un serio problema, tanto en la salud pública como en la clínica, indican que los antibióticos de amplio espectro constituyen un arma poderosa en el tratamiento específico del padecimiento.^{10, 11, 12, 13, 14} No obstante, a partir de 1957 han estado encontrando cepas de *Shigella* con "resistencia múltiple" o sea, resistentes a varios antibióticos a la vez, en una proporción que va en constante aumento. Esta aparición de cultivos resistentes ha ido acompañada de la pérdida de efectividad de los antibióticos correspondientes en el tratamiento de la shigelosis. El fracaso de las tetraciclinas en esta enfermedad, cuando el germen muestra resistencia "in vitro", fue señalado en México por De la Torre et al., en 1959.¹⁵ Observaciones semejantes han sido hechas en otros países.^{10, 16, 17}

Del análisis del tipo de resistencia presentada por las cepas de *Shigella* aisladas en la ciudad de México, se desprende que en la mayoría de los casos se trata de "resistencia múltiple", siendo la combinación más común, y además, la más importante en la práctica, la resistencia triple a las tetraciclinas, cloranfenicol y estreptomycin. En segundo lugar, se presenta la resis-

tencia doble a tetraciclinas y estreptomina.

Estudios preliminares, que serán presentados posteriormente, indican que, en realidad, un buen número de nuestras cepas de *Shigella* con "resistencia múltiple", lo es a la vez otras sustancias como las sulfonamidas, y a otros antibióticos como neomicina, kanamicina y ampicilina, que no fueron incluidos en los trabajos originales. Igualmente sugieren que, por lo menos en el 80% de estos cultivos de *Shigella* con "resistencia múltiple", el factor que determina la resistencia es de naturaleza genética, ya que no sólo se transmite, junto con los caracteres de la resistencia, de generación en generación, sino que también puede transferirse experimentalmente de las cepas resistentes de *Shigella* a cultivos sensibles de *Escherichia coli*, con la única condición de que estos últimos sean genéticamente receptivos, es decir, bacterias hembra o F⁻.

Es interesante hacer notar que los cultivos que presentaron resistencia al cloranfenicol, invariablemente lo fueron también a otro u otros antibióticos, siendo el fenómeno de esta "resistencia múltiple" independientemente de la naturaleza química de los mismos. Investigadores japoneses¹⁰ han demostrado que este tipo de resistencia depende de cierto material genético, presente en el citoplasma de la célula bacteriana, aunque en determinadas condiciones puede integrarse al cromosoma, habiendo recibido el nombre de "factores de resistencia" o "FR". Dichos factores se comportan en forma semejante a los

llamados episomas, y se encuentran normalmente en las cepas de *Escherichia coli* que forman parte de la flora bacteriana del hombre y de algunos animales. De estos colis resistentes, que probablemente han existido desde siglos atrás en la naturaleza, es posible transferir experimentalmente, tanto "in vitro" como "in vivo", los factores "FA", no sólo a cultivos sensibles de *Shigella*, sino también a otros grupos de bacterias intestinales como *Salmonella*, colis enteropatógenos y *Vibrios*.^{10, 18, 19, 20}

Dede luego, no todas las células bacterianas de un cultivo que ha sido expuesto a la conjugación con cepas portadoras de esta resistencia, se infectan con el episoma o "FA" respectivo. La proporción de mutantes resistentes que resulta es variable, dependiendo de diversas circunstancias, desconocidas en gran parte. De todas maneras, si al fenómeno genético se agrega la acción de los antibióticos u otros agentes antimicrobianos, se ejerce una presión selectiva que puede conducir al desarrollo de una población bacteriana determinada, con predominio de la resistencia. Probablemente, el gran incremento de la resistencia de las cepas de *Shigella* que hemos estudiado, se debe a la combinación de tales mecanismos, sexual o genético, primero, y luego selectivo.

Para terminar, es conveniente mencionar que los cultivos de *Shigella* aislados durante el presente año, se mostraron bastante sensibles a la neomicina, ampicilina, hetacilina y furazolidona. Resultados no publicados indican una susceptibilidad semejante en años

anteriores, y son parecidos a los obtenidos por Bessudo y Sosa,²¹ y por otros autores.²² Será interesante observar si este grado de actividad se conserva o no en el futuro.

REFERENCIAS

1. Olarte, J.: *Infecciones por Shigella en la Ciudad de México*. Bol. méd. Hosp. infant. (Méx.) 17: 17, 1960.
2. Ordway, N. K.: *Diarrheal disease and its control*. Bull. World Hlth. Org., 23: 73, 1960.
3. Olarte, J.: *Sensibilidad de algunas bacterias patógenas intestinales para las sulfonamidas y antibióticos*. Rev. Invest. Clin. (Méx.) 4: 245, 1962.
4. Aguilar Pico, R., Olarte, J., Estrada Balmori, P., Cruz Ramírez, L., Armendarces Sagera, S., y Urrusti Sanz, J.: *VII. Estudio de la acción in vitro de los antibióticos y la sulfadiazina sobre los gérmenes aislados en casos de diarreas*. La Prensa Médica Mexicana (Méx.), 17: 190, 1952.
5. Aguilar Pico, R.: *El tratamiento de las colitis mucosanguinolentas por la sulfapiridina*. Rev. Mex. Pediat. (Méx.), 11: 181, 1941.
6. Olarte, J. y De la Torre, J. A.: *Resistance of Shigella flexneri to tetracyclines, chloramphenicol and streptomycin. A study of 131 freshly isolated strains*. Amer. J. Trop. Med. 8: 324, 1959.
7. Olarte, J., Galindo, E. y Joaquín, A.: *Sensitivity of Salmonella, Shigella, and Enteropathogenic Escherichia coli species to cephalothin, ampicillin, chloramphenicol, and tetracycline*. Antimicrob. Agents & Chemother. 1962, p. 787.
8. Olarte, J., Galindo, E. y Joaquín, A.: *El problema de la resistencia de las bacterias enteropatógenas a los antibióticos de uso común*. Excerpta Médica International Congress, Series N° 127, 1965, p. 225.
9. Hardcastle, Jr., G. A., Johnson, D. A. y Panetta, C. A.: *Preparation and structure of hetacillin*. J. Organic. Chemistry, 31: 897, 1966.
10. Watanabe, T.: *Infective heredity of multiple drug resistance in bacteria*. Bac. Rev. 27: 87, 1963.
11. Ross, S., Burke, F. G., Rice, E. C., Washington, J. A. y Stevens, S.: *Chloramphenicol therapy in Shigella enteritis*. J.A.M.A. 143: 1459, 1950.
12. Hardy, A. V., Mason, R. P. y Martin, G. A.: *The antibiotics in acute bacillary dysentery*. Ann. New York Acad. Sci. 55: 1070, 1952.
13. Zimmerman, L. E., Cooper, M. y Barber, C. D.: *Bacteriological studies on an epidemic of bacillary dysentery in Korea*. Am. J. Clin. Path. 22: 549, 1952.
14. Garfinkel, B. T., Martin, G. M., Watt, J., Payne, F. J., Mason, R. P. y Hardy, A. V.: *Antibiotics in acute bacillary dysentery*. J.A.M.A. 151: 1157, 1953.
15. De la Torre, J. A., Olarte, J. y Joaquín, A.: *Treatment of shigellosis with tetracycline in infants under 2 years of age*. Pediatrics. 23: 1136, 1959.
16. Marberg, K., Altmann, G. y Eshkol-Bruck, A.: *Observation on resistance to sulfadiazine and antibiotics in shigellosis*. Amer. J. Trop. Med. 7: 51, 1958.
17. Scrimgeour, G.: *The ampicillin resistance of Shigella sonnei; its epidemiological value*. Montly Bull. Ministry, Hlth. Pub. Hlth. Lab. Serv., 25: 278, 1966.
18. Datta, N.: *Infectious drug resistance*. Brit. M. Bull. 21: 254, 1965.
19. Anderson, E. S.: *Facteurs de transfert et résistance aux antibiotiques chez les enterobacteries*. Ann. Inst. Pasteur. 112: 547, 1967.
20. Baudens, J. G. y Chabbert, Y. A.: *Analyse des facteurs de résistance transférables isolés en France*. Ann. Inst. Pasteur. 112: 565, 1967.
21. Bessudo, D. y Sosa Fonseca, A.: *Susceptibilidad a diferentes antibióticos de las bacterias aisladas en distintos procesos infecciosos*. Bol. Med. Hosp. In. (Méx.) 24: 659, 1967.
22. Haltalin, K. C. y Nelson, J. D.: *In vitro susceptibility of Shigellae to sodium sulfadiazine and to eight antibiotics*. J.A.M.A. 193: 705, 1965.