

Sensibilidad antimicrobiana entre los serogrupos de *Shigellae* aislados en la ciudad de Quito-Ecuador

Irina Villacrés Granda^{1*}, Iliana Alcocer¹

¹Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Escuela de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Microbiología. Avenida 12 de Octubre 1076 y Roca. -Casilla postal- 17-01-2184, Quito, Ecuador.

*Autor principal/Corresponding author, e-mail: irinamaribel@gmail.com

Editado por/Edited by: Diego F. Cisneros-Heredia, Ph.D.(c)

Recibido/Received: 2015/06/29. Aceptado/Accepted: 2015/10/09.

Publicado en línea/Published on Web: 2015/12/30. Impreso/Printed: 2015/12/30.

Antimicrobial resistance within serogroups of *Shigellae* isolates in the city of Quito Ecuador

Abstract

The pathotype *Shigellae* includes bacillus from the species *S. flexneri*, *S. sonnei*, *S. boydii* and *S. dysenteriae* which are causatives of the disease known as bacillary dysentery or shigellosis. The pathogenicity of the genus is characterized by the presence of high antibiotic resistance. The aim of this study was to identify the species and antimicrobial susceptibility in clinical isolates of *Shigellae*. We analyzed 79 isolates obtained from Zurita & Zurita Laboratorios and Vozandes Hospital in the city of Quito. Three species were obtained by serotyping, using polyclonal antisera: *S. flexneri* ($n=50$; 63,29 %), *S. sonnei* ($n=23$; 29,11 %), and *S. boydii* ($n=6$; 7,59 %). The antimicrobial susceptibility was analyzed using the Kirby Bauer method and recommendations from the "Clinical and Laboratory Standards Institute" (CLSI). Most of the isolates showed resistance to tetracycline ($n=76$; 96,20 %), ampicillin ($n=75$; 94,94 %), trimethoprim/sulfamethoxazole ($n=68$; 86,08 %) and chloramphenicol ($n=67$; 84,81 %).

The results showed the incidence of multidrug resistance to antibiotics commonly used for treating shigellosis, and the presence of three species of *Shigellae*.

Keywords. Antibiotics, bacillary dysentery, *Shigellae*.

Resumen

El patotipo *Shigellae* comprende bacilos de las especies *S. flexneri*, *S. sonnei*, *S. boydii* y *S. dysenteriae*, causantes de la enfermedad conocida como disentería bacilar o shigelosis. La patogenicidad del género se caracteriza por la presencia de una alta multiresistencia a antibióticos. El objetivo de este estudio fue identificar las especies y la sensibilidad antimicrobiana en aislados clínicos de *Shigellae*. Se analizaron 79 aislados obtenidos de Zurita & Zurita Laboratorios y del Hospital Vozandes en la ciudad de Quito. Mediante serotipaje, con el uso de antisueros policlonales, se obtuvieron 3 especies: *S. flexneri* ($n=50$; 63,29 %), *S. sonnei* ($n=23$; 29,11 %), y *S. boydii* ($n=6$; 7,59 %). La sensibilidad antimicrobiana se analizó siguiendo el método de Kirby-Bauer y las recomendaciones del "Clinical and Laboratory Standards Institute" (CLSI). La mayoría de las cepas mostraron resistencia a tetraciclina ($n=76$; 96,20 %), ampicilina ($n=75$; 94,94 %), trimetoprim/sulfametoxazol ($n=68$; 86,08 %) y cloranfenicol ($n=67$; 84,81 %). Los resultados obtenidos demostraron la incidencia de multiresistencia a antibióticos comúnmente utilizados para el tratamiento de shigelosis, y la presencia de 3 especies de *Shigellae*.

Palabras Clave. Antibióticos, disentería bacilar, *Shigellae*.

Introducción

El patotipo *Shigellae* comprende bacilos Gram negativos de 0,3 a 1 μm diámetro y de 1 a 6 μm de longitud, no móviles, no formadores de esporas, anaerobios facultativos, pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* y causantes de la enfermedad conocida como shigelosis o disentería bacilar [1]. Su identificación se fundamen-

ta en características bioquímicas y antigénicas, en base a ellas se describen cuatro especies: *Shigella dysenteriae*, serogrupo A; *Shigella flexneri*, serogrupo B; *Shigella boydii*, serogrupo C; y, *Shigella sonnei*, serogrupo D; todos éstos causantes disentería bacilar, aunque con diferente gravedad [1–3].

La transmisión de estas bacterias se produce principal-

mente por ruta fecal-oral directa o indirecta en lugares que se caracterizan por una higiene deficiente, como guarderías o centros carcelarios, existiendo también un alto índice de contagio en personas que realizan viajes a países en vías de desarrollo, produciéndose el síndrome diarreico de los viajeros [4].

Alrededor del mundo la enfermedades diarreicas son consideradas un problema de salud pública, especialmente en países en vías de desarrollo donde se estima que causan alrededor de 165 millones de casos y 1.1 millón de muertes por año [4]. En el Ecuador se han registrado 516 567 casos hasta el 2007 y un total de 32 675 casos en el 2009 [5].

La resistencia a antibióticos en las especies del patotipo *Shigellae* ha ido aumentando lo que ha limitado el tratamiento y el uso de antimicrobianos como ampicilina y trimetoprim/sulfametoxazol [6, 7]. Esta resistencia ha sido adquirida debido al indiscriminado uso de antibióticos y la transferencia horizontal de genes [7]. Actualmente se recomienda ciprofloxacina como primera línea de tratamiento para pacientes con diarrea con sangre, indistintamente de su edad, debido a que este antibiótico es eficiente, seguro y de bajo costo [8].

El objetivo de este análisis fue identificar las especies de los aislados de *Shigellae* mediante el uso de sueros polivalentes y determinar la sensibilidad a antimicrobianos de éstos, para así definir la población analizada y formular datos que informen sobre el posible tratamiento de shigelosis en Quito- Ecuador.

Materiales y Métodos

Obtención y almacenamiento de aislados

79 aislados clínicos de *Shigellae* fueron colectados progresivamente en Zurita & Zurita Laboratorios y en el Hospital Vozandes en Quito desde el año 2005 hasta el año 2010.

Los aislados fueron mantenidos en congelación a -80°C y -20°C en una solución de caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI) y 30 % de glicerol estéril. Actualmente se conservan en la Colección Bacteriana Quito Católica, CB-QCA del Laboratorio de Microbiología en la Escuela de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

Identificación serológica de aislados clínicos de *Shigellae*

La identificación de serotipos del patotipo *Shigellae* fue realizada utilizando la técnica de aglutinación en lámina [9], siguiendo las recomendaciones del fabricante [10]. Los aislados fueron enfrentados con cuatro antisueros policlonales comerciales Difco *Shigella* Antisera Poly: Grupo A, *S. dysenteriae*, serotipos 1-7; Grupo B, *S. flexneri*, serotipos 1-6; Grupo C, *S. boydii*, serotipos 1-7; y, Grupo D, *S. sonnei*, serotipos I y II. Se utilizó como controles positivos las cepas ATCCTM: *S. sonnei* 25931; *S.*

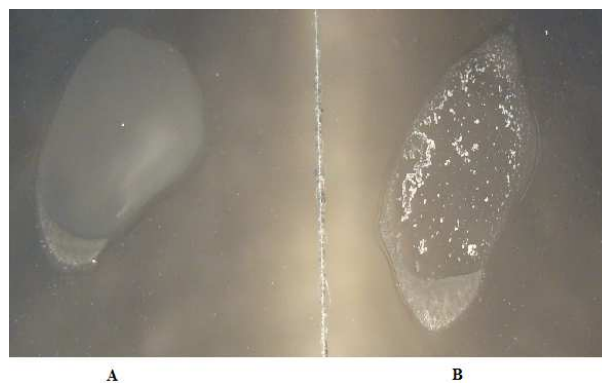


Figura 1: Prueba de aglutinación de sueros en *Shigella* spp. A. Prueba negativa. No se observa aglutinación. B. Prueba positiva. Se observa la aglutinación del suero con la bacteria.

boydii (1) 9207; y *S. flexneri* (2b) 12022; y, como control negativo, una gota de cloruro de sodio al 0,85 % y la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922.

Sensibilidad a antimicrobianos

Se utilizó el método de difusión con disco [11] en agar Müller-Hinton (DifcoTM) siguiendo las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [12].

Los antibióticos utilizados se indican para la utilización en bacterias enteropatógenas causantes de síndrome diarreico. Estos son: ácido nalidíxico (30 μg), tetraciclina (30 μg), nitrofurantoina (300 μg), ampicilina (10 μg), ceftazidima (30 μg), ceftriaxona (30 μg), ciprofloxacina (5 μg), cloranfenicol (30 μg), trimetoprim/sulfametoxazol (23,75/1,25 μg), azitromicina (15 μg). Todos los antibióticos utilizados fueron de la marca BB-BBL. Los puntos de corte para cada antibiótico fueron establecidos según las recomendaciones del CLSI [14] para *Enterobacteriaceae* tomándose la medida en milímetros, siendo resistente, intermedio y sensible respectivamente (Tabla 1). Se utilizó como control las cepas ATCCTM *Shigella sonnei* 25931, *Shigella boydii* (1) 9207 y *Shigella flexneri* (2b) 12022.

Antimicrobiano	Punto de corte en milímetros		
	Resistente	Intermedio	Sensible
Ácido nalidíxico	≤ 13	14-18	≥ 19
Ampicilina	≤ 13	14-16	≥ 17
Azitromicina	≤ 13	14-17	≥ 18
Ceftazidima	≤ 14	15-17	≥ 18
Ceftriaxona	≤ 13	14-20	≥ 21
Ciprofloxacina	≤ 15	16-20	≥ 21
Cloranfenicol	≤ 12	13-17	≥ 18
Nitrofurantoina	≤ 14	15-16	≥ 17
Tetraciclina	≤ 11	12-14	≥ 15
Trimetoprim/sulfametoxazol	≤ 10	11-15	≥ 16

Tabla 1: Puntos de corte para los diferentes antibióticos utilizados en el análisis de la sensibilidad a antimicrobianos en *Shigellae*.

Análisis estadístico

El análisis porcentual de los resultados se realizó empleando Microsoft Office Excel 2010 (©2010 Micro-

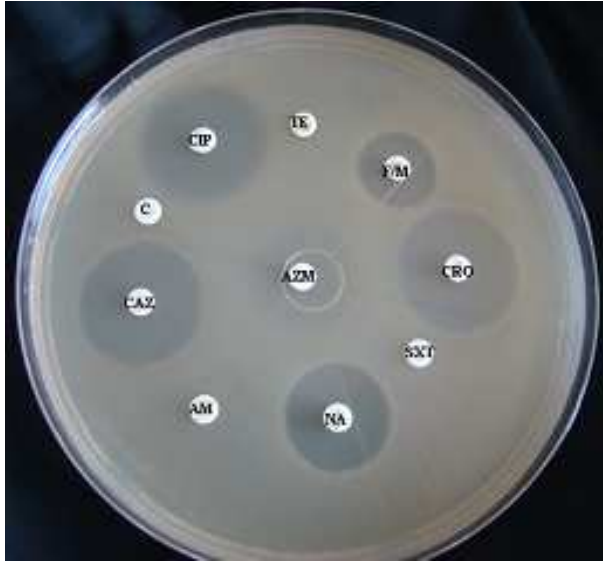


Figura 2: Difusión con disco realizada en muestras de *Shigella* spp. Antibiograma con discos de sensibilidad de antibióticos recomendados para el tratamiento de *Shigella* spp. TE: Tetraciclina; F/M: Nitrofurantoina; CRO: Ceftriaxona; SXT: Trimetoprim/sulfametoxazol; NA: Ácido nalidíxico; AM: Ampicilina; CAZ: Ceftazidima; C: Cloranfenicol; CIP: Ciprofloxacina; AZM: Azitromicina.

soft Corporation).

Para el estudio de los resultados obtenidos tanto en serotipaje como en resistencia a antimicrobianos, se utilizó el método estadístico de análisis de correspondencias múltiples (MCA); empleando el programa estadístico informático "Statistical Package for the Social Sciences" (SPSS) versión 12,0.

Resultados

Por medio del método de aglutinación en lámina (Fig. 1) se obtuvo la identificación de las especies del género *Shigella* obteniéndose aislados positivos para cada especie: *Shigella flexneri* ($n=50$; 63,29 %), *Shigella sonnei* ($n=23$; 29,11 %), *Shigella boydii* ($n=6$; 7,59 %), y *Shigella dysenteriae* ($n=0$; 0,00 %) (Tabla 2).

Analizando íntegramente al género, se observó las siguientes resistencias: tetraciclina ($n=76$; 96,20 %), ampicilina ($n=75$; 94,94 %), trimetoprim/ sulfametoxazol ($n=68$; 86,08 %), cloranfenicol ($n=67$; 84,81 %), azitromicina ($n=12$; 15,19 %), ácido nalidíxico ($n=8$; 10,13 %), nitrofurantoina ($n=5$; 6,33 %), ceftriaxona ($n=1$; 1,27 %), ciprofloxacina ($n=1$; 1,27 %), y ceftazidima ($n=0$; 0,00 %) (Figs. 2, 3).

Individualmente, cada especie presentó diferentes resistencias las cuales están especificadas en la Tabla 3.

Se realizó una clasificación según patrones específicos de resistencia antimicrobiana mostrada durante el análisis. Los patrones de resistencia fueron divididos en 16 categorías representadas por números romanos (I-XVI) (Tabla 4).

La relación entre cada especie y la resistencia a antibióticos se observa en los anexos 1, 2 y 3. Existe alta heterogeneidad en los patrones de resistencia al relacionarlos con las especies con una concentración superior de casos de *S. flexneri* multirresistentes en relación a las otras especies.

Discusión

Las enfermedades diarreicas a nivel mundial han sido atribuidas a diferentes agentes entéricos infecciosos, siendo uno de los más comunes las bacterias del patotipo Shigellae [1]. Mundialmente se producen dos mil millones de casos de diarrea cada año; a nivel de Latinoamérica y el Ecuador las enfermedades diarreicas agudas (EDA) son la segunda causa de morbilidad en la población en general, y de mortalidad en niños menores de 5 años y adultos mayores [13, 14]. Siendo las EDA un problema de salud a nivel mundial, la capacitación en identificación y determinación de la sensibilidad a antibióticos en enfermedades entéricas es imprescindible para determinar acciones epidemiológicas [13].

La shigelosis generalmente es transmitida por contacto directo fecal-oral o por la ingestión de comida o agua contaminada [1]. Existen, además vectores de la enfermedad como moscas y cucarachas en las zonas donde la eliminación de excretas es abierta [15]. En este estudio el 59,76 % de aislados fueron obtenidos a partir de muestras de heces fecales. El porcentaje obtenido de muestras de secreción vaginal (18,29 %) es considerado como una importante causa de vulvo vaginitis en países en vías de desarrollo [15].

Entre los marcadores fenotípicos, la serotipificación es el método de mayor agudeza para la determinación de serotipos del patotipo Shigellae [16]. Este método permite realizar estudios de vigilancia que determinen la prevalencia de serogrupos y serovariedades en diferentes zonas geográficas, ya sea en estudios de brotes o de casos esporádicos [16]. En este estudio el método de seroagrupación tuvo un excelente resultado obteniéndose las especies *S. flexneri*, *S. sonnei* y *S. boydii*. No se han descubierto o reportado hasta la fecha cepas de *S. dysenteriae* en el Ecuador [28] y en este estudio tampoco se aislaron.

Estudios referentes a la identificación de especies dentro del patotipo Shigellae han determinado que en países en vías de desarrollo la circulación de ciertas especies se encuentra relacionada con el nivel socioeconómico [15]. *S. flexneri* es conocida por ser predominante en países en vías de desarrollo y *S. sonnei* en países industrializados [1, 4]. Estudios recientes han indicado que *S. sonnei* está superando a las poblaciones de *S. flexneri* en países como Tailandia, Korea del Sur y Taiwan [17, 18]. En la presente investigación se observó que la especie más común resultó ser *S. flexneri*, seguido por *S. sonnei* y *S. boydii* y finalmente no se reportó presencia de *S. dysenteriae*. Estos datos son revalidados con estudios en Latinoamérica, especialmente en Brasil, Uruguay, Cuba

Código de congelación PUCE CB-QCA	Origen de muestra	Especie identificada de Shigellae	Total	Total de aislados por especie y porcentaje
3337, 3338, 3343, 3344, 3350, 3351, 3361, 3363, 3367, 3375, 3378, 3380, 3385, 3400, 3402, 3403, 3404, 3413, 3414, 3415, 3416, 3417	Heces	<i>Shigella flexneri</i>	22	
3345, 3348, 3352, 3354, 3356, 3360, 3365, 3370, 3377, 3379, 3381, 3382, 3383, 3384, 3386, 3389, 3418	Secreción Vaginal	<i>Shigella flexneri</i>	17	n=50; 63,29 %
3340, 3341, 3349, 3372, 3376, 3388, 3390, 3391, 3392, 3393, 3396	No determinado	<i>Shigella flexneri</i>	11	
3339, 3342, 3347, 3355, 3357, 3358, 3359, 3371, 3373, 3374, 3387, 3395, 3397, 3401, 3407, 3408, 3409, 3411, 3412	Heces	<i>Shigella sonnei</i>	19	
3353	Secreción vaginal	<i>Shigella sonnei</i>	1	n=23; 29,11 %
3369, 3394, 3410	No determinado	<i>Shigella sonnei</i>	3	
3362, 3366, 3368, 3399, 3405, 3406	Heces	<i>Shigella boydii</i>	6	n=6; 7,59 %

Tabla 2: Identificación de aislados por serotipaje siguiendo el método de aglutinación en lámina. Relación origen de muestra con especie identificada de Shigellae.

Identificación serológica	Antibióticos									
	Ácido nalidíxico	Ampicilina	Azitromicina	Ceftazidima	Ceftriaxona	Ciprofloxacina	Cloranfenicol	Nitrofurantoina	Tetraciclina	Trimetoprim/Sulfametoxazol
<i>S. flexneri</i> (n=50)	5	46	3	0	1	2	45	2	47	41
<i>S. sonnei</i> (n= 23)	3	23	8	0	0	0	21	2	23	22
<i>S. boydii</i> (n= 6)	0	6	1	0	0	0	1	1	6	5

Tabla 3: Resistencia antimicrobiana mostrada por las diferentes especies de Shigellae. Relación número de especies con resistencia a antibiótico.

y Argentina donde la información para la prevalencia de estas especies de *Shigella* son similares [19–22].

Durante años las enfermedades diarreicas como la shigelosis han sido asistidas con el uso de antibióticos como trimetoprim /sulfametoxazol, ampicilina, ciprofloxacina y azitromicina [22]; sin embargo, la aparición de aislados multiresistentes ha limitado el tratamiento y ha incrementado la prevalencia de la enfermedad [24]. La diversidad de fenotipos de resistencia mostrados por los

aislados pudiera deberse a que la resistencia está siendo mediada por plásmidos, con la excepción para quinolonas y azitromicina, y además por integrones o transposones que estén incorporados al cromosoma bacteriano [23].

Estudios competentes relacionados a la resistencia a antimicrobianos en el patotipo Shigellae en países de Latinoamérica como Brasil, Chile, Cuba, Argentina, y Uruguay reportan una alta resistencia a los antibióticos tri-



Figura 3: Resistencia a antibióticos en *Shigella* spp. A: Resistencia a trimetoprim/sulfametoxazol B: Resistencia a tetraciclina. C: Resistencia a ampicilina. D: Resistencia a cloranfenicol.

Fenotipos de resistencia	Patrón	Especies			Total de cepas y porcentaje
		S. flexneri	S. sonnei	S. boydii	
I	F/M, Te, CIP, C, NA, CRO, AM, SXT, AZM	1			n=1; 1,27 %
II	Te, C, NA, AM, SXT, AZM		2		n=2; 2,53 %
III	Te, C, NA, AM, AZM	3			n=3; 3,79 %
IV	Te, C, AM, SXT, AZM		4	1	n=5; 6,33 %
V	F/M, Te, C, AM, SXT	1	1		n=2; 2,53 %
VI	Te, C, AM, SXT	32	13		n=45; 56,96 %
VII	Te, NA, AM, SXT	1	1		n=2; 2,53 %
VIII	F/M, Te, AM, SXT	1		1	n=2; 2,53 %
IX	Te, AM, SXT	1		3	n=4; 5,06 %
X	Te, C, SXT	2			n=2; 2,53 %
XI	C, AM, SXT	1			n=1; 1,27 %
XII	Te, C, AM	5	1		n=6; 7,59 %
XIII	Te, AM			1	n=1; 1,27 %
XIV	Te, AZM	1			n=1; 1,27 %
XV	AM	1			n=1; 1,27 %
XVI	No presenta resistencia	1			n=1; 1,27 %

Tabla 4: Patrones de resistencia antimicrobiana mostrados por los aislados de *Shigellae*. F/M, Nitrofurantoina; Te, Tetraciclina; CIP, Ciprofloxacina; CAZ, Ceftazidima; CRO, Ceftriaxona; C, Cloranfenicol; NA, Ácidonalidíxico; AM, Ampicilina; SXT, Trimetoprim/Sulfametoxazol; AZM, Azitromicina.

metoprim/sulfametoxazol, cloranfenicol y ampicilina [19, 21, 22, 25, 26]. Mientras que para países como Canadá, Senegal e India se reporta una resistencia a ampicilina y tetraciclina [27]. Para Ecuador desde el año 2000 al 2010 se ha detectado una multiresistencia a los antibióticos trimetoprim/ sulfametoxazol, cloranfenicol, ampicilina y tetraciclina; sin embargo, la sensibilidad a cef-

triaxona y ciprofloxacina se ha mantenido [28].

En este estudio se observó una alta resistencia a tetraciclina, cloranfenicol, ampicilina y trimetoprim/ sulfametoxazol lo que concuerda con los datos reportados a nivel mundial y especialmente en Latinoamérica y Ecuador [28]. La resistencia a trimetoprim/sulfametoxazol y ampicilina ha sido atribuida a plásmidos transferibles

con pesos moleculares de 94,5 a 120 kb [20], por lo que puede ser explicada por el intercambio de material genético entre cepas, además cierta resistencia se debe a la presión selectiva pues la combinación de trimetoprim/sulfametoxazol ha sido muy utilizada para el tratamiento de shigelosis [19].

Debido a la alta multiresistencia a antibióticos de primera línea presente en *Shigellae* se considera indicado el uso de cefalosporinas de tercera generación como ceftazidima y ceftriaxona para lactantes que requieren hospitalización debido a la gravedad del cuadro clínico [29]. En adultos y niños menores de 5 años está indicada la ciprofloxacina como droga de primera elección, y la azitromicina está indicada para los niños que no requieren hospitalización [8, 30].

En resumen, este estudio demostró la presencia de tres especies del patotipo *Shigellae* con mayor prevalencia de *S. flexneri*, lo cual concuerda con estudios realizados en Latinoamérica. Además se determinó la sensibilidad a antimicrobianos presentándose el género como multiresistente a los antibióticos utilizados como primera línea de tratamiento.

Agradecimientos

Esta investigación se realizó gracias a la donación de aislados por parte de los Laboratorios Zurita & Zurita y el Hospital Vozandes Quito. Un cordial agradecimiento a la Dra. Jeannette Zurita y al equipo del laboratorio de microbiología de la escuela de Ciencias Exactas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

Referencias

- [1] Murray, P.; Rosenthal, K.; Pfaller, M. 2013. "Medical Microbiology". Elsevier Inc: Philadelphia.
- [2] Germani, Y.; Sansonetti, P. 2006. "The Genus *Shigella*" en: "The Prokaryotes. A handbook on the Biology of Bacteria. 6. Proteobacteria: Gamma Subclass", M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K. Schleifer, E. Stackebrandt, *Springer*, New York: 99-116.
- [3] Ye, C.; Lan, R.; Xia, S.; Zhang, J.; Sun, Q.; Zhang, S.; Jing, H.; Wang, L.; Li, Z.; Zhou, Z.; Zhao, A.; Cui, Z.; Cao, J.; Jin, D.; Huang, L.; Wang, Y.; Luo, X.; Bai, X.; Wang, Y.; Wang, P.; Xu, Q.; Xu, J. 2010. "Emergence of a new resistant serotype X variant in an epidemic clone of *Shigella flexneri*". *Journal of Clinical Microbiology*, 48: 419-426.
- [4] Kotloff, K. L.; Winickoff, J. P.; Ivanoff, B.; Clemens, J. D.; Swerdlow, D. L.; Sansonetti, P. J.; Adak, G. K.; Levine, M. M. 1999. "Global burden of *Shigella* infections: implications for vaccine development and implementation of control strategies". *Bulletin of the World Health Organization*, 77: 651-666.
- [5] Carrera, M. S.; Yuga, J. C. 2012. "Anuario de Estadísticas Hospitalarias Camas y Egresos 2012". Instituto Nacional de Estadística y Censos: Quito, Ecuador. http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/webinec/Estadisticas_Sociales/Camas_Egresos_Hospitalarios/Publicaciones-Cam_Egre_Host/Anuario_Camas_Egresos_Hospitalarios_2012.pdf.
- [6] Seidlein, L.; Kim, D. R.; Ali, M.; Lee, H.; Wang, X. Y.; Thiem, V. D.; Canh, D. G.; Chaicumpa, W.; Agtini, M. D.; Hossain, A.; Bhutta, Z. A.; Mason, C.; Sethabutr, O.; Talukder, K.; Nair, G. B.; Dee, J. L.; Kotloff, K.; Clemens, J. 2006. "A multicentre study of *Shigella* diarrhoea in six Asian countries: disease burden, clinical manifestations, and microbiology". *PLoS Medicine*, 3(9): 1556-1569.
- [7] Gu, B.; Cao, Y.; Pan, S.; Zhuang, L.; Yu, R.; Peng, Z.; Qian, H.; Wei, Y.; Zhao, L.; Liu, X.; Tong, M. 2012. "Comparison of the prevalence and changing resistance to nalidixic acid and ciprofloxacin of *Shigella* between Europe-America and Asia-Africa from 1998 to 2009". *International Journal of Antimicrobial Agents*, 40: 9-17.
- [8] Centers for Disease Control and Prevention. CDC. 2014. "Health Information for International Travel 2014". Oxford University Press: New York.
- [9] Edwards, P.; Edwing, W. 1972. "Identification of *Enterobacteriaceae*". Burgers Publ. Co.: Minneapolis.
- [10] Difco. 2011. "Manual Difco *Shigella* Antisera Poly O". Becton, Dickinson and Company: County Clare: 11-13.
- [11] Bauer, A. W.; Kirby, W. N.; Sherrins, G. J.; Turk, M. 1966. "Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method". *American Journal of Clinical Pathology*, 45: 493-496.
- [12] Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI. 2010. "Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Sixteen International Supplement, CLSI document". Clinical and Laboratory Standards Institute: Pennsylvania.
- [13] Organización Panamericana de la Salud. 2009. "Informe Anual de la Red de Monitoreo/Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos". OPS: Basilea.
- [14] Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. INEC. 2009. "Anuario de Estadísticas Hospitalarias: Camas y Egresos. Diez principales causas de morbilidad. Lista Internacional Detallada-CIE-1015". INEC: Quito.
- [15] Gonzales, S.; Cecchini, D. 2003. "Diagnóstico e investigación epidemiológica contra las enfermedades transmitidas por alimentos". OPS: Buenos Aires.
- [16] Guerrant, R. L.; Hughes, J. M.; Lima, J. 1999. "Diarrhea in developing countries: magnitude, special setting and etiologies". *Journal of Infectious Diseases*, 1: 41.
- [17] Von Seidlein, L.; Kim, D. R.; Ali, M.; Lee, H.; Wang, X. Y.; Thiem, V. D.; Canh, D. G.; Chaicumpa, W.; Agtini, M. D.; Hossain, A.; Bhutta, Z. A.; Mason, C.; Sethabutr, O.; Talukder, K.; Nair, G. B.; Deen, J. L.; Kotloff, K.; Clemens, J. 2006. "A multicentre study of *Shigella* diarrhoea in six Asian countries: disease burden, clinical manifestations, and microbiology". *PLoS Medicine*, 3(9): 1556-1569.

- [18] Wei, H. L.; Wang, Y. W.; Li, C. C.; Tung, S. K.; Chiou, C. S. 2007. "Epidemiology and evolution of genotype and antimicrobial resistance of an imported *Shigella sonnei* clone circulating in central Taiwan". *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases*, 58: 469-475.
- [19] Mota, I.; Varela, G.; Gadea, M.; Caffer, M.; Sirok, A.; Schelotto, F. 2005. "Serotipos, perfil plasmídico y antibiogramas de cepas de *Shigella flexneri* aisladas de niños menores de 5 años con diarrea sanguinolenta usuarios de los servicios de Salud pública". *Revista Médica de Uruguay*, 21: 30-36.
- [20] Merino, A.; Hreňuk, E.; Ronconi, M.; Alonso, M. 2004. "Resistencia a antibióticos y epidemiología molecular de *Shigella* spp. en el noreste argentino". *Revista Panamericana de Salud Pública*, 15(4): 219- 224.
- [21] Ramírez, M.; Valdés, N.; Bravo, L.; Fernández, A.; Castañeda, N. 2004. "Perfil plasmídico resistencia antimicrobiana en cepas de *Shigella* aisladas en Cuba". *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 56(3): 178-185.
- [22] Silva, T.; Nogueira, A.; Magalhaes, F.; Fagundes, A.; Pereira, L.; Puccinelli, P. 2008. "Characterization of *Shigella* spp. by antimicrobial resistance and PCR detection of ipa genes in an infantile population from Porto Velho (western Amazon region), Brazil". *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 103(7): 731-733.
- [23] Xing, K.; Bing, G.; Shiyang, P.; Mingqing, T. 2011. "Epidemiology and molecular mechanism of integron-mediated antibiotic resistance in *Shigella*". *Arceives of Microbiology*, 193: 767-774.
- [24] Qu, M.; Zhang, X.; Liu, G.; Huang, Y.; Jia, L.; Liang, W.; Li, X.; Wu, X.; Li, J.; Yan, H.; Kan, B.; Wang, Q. 2014. "An eight-year study of *Shigella* species in Beijing, China: serodiversity, virulence genes, and antimicrobial resistance". *The Journal of Infection in Developing countries*, 8(7): 904-908.
- [25] Boheme, C.; Iglesias, T.; Loyola, A.; Soto, L.; Rodríguez, G.; Reydet, P. 2002. "Comparación de la susceptibilidad de especies de *Shigella* a antimicrobianos de uso habitual en el Hospital Regional de Temuco, Chile". *Revista Médica de Chile*, 130(9): 1021-1026.
- [26] Vila, J.; Gascón, J.; Abadía, S.; Gómez, J.; Marco, F.; Moreno, A. 1994. "Antimicrobial resistance of *Shigella* isolates causing traveler's diarrhea". *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 38(11): 2668-70.
- [27] Bassa, A.; Dadie, A.; Guessennd, N.; Gbonon, V.; Dako, E.; Dje, M.; Dosso, M. 2010. "Virulence Factors and Resistance Profile of *Shigella* Isolated During Infectious Diarrhea in Abidjan, Côte D'Ivoire". *Journal of Applied Sciences Research*, 6(6): 594-599.
- [28] Zurita, J. 2010. "*Shigella* spp." en "Resistencia bacteriana en el Ecuador". *Centro de Publicaciones PUCE: Quito*: 55-57.
- [29] Replogle, M.; Fleming, D.; Cieslak, O. 2000. "Emergence of Antimicrobial Resistance Shigellosis in Oregon". *Clinical Infectious Diseases*, 30: 515-519.
- [30] Saurina, G.; Quale, J. M.; Manikal, V. M. 2000. "Antimicrobial resistance in Enterobacteriaceae in Brooklyn, NY: epidemiology and relation to antibiotic usage patterns". *Journal Antimicrobial Chemotherapy*, 45: 895-898.