UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS



PLESIOMONAS EN NIÑOS CON INFECCIONES

GASTROINTESTINALES.

ARTURO RAMIREZ CASTRO



Frecuencia de Aislamiento de <u>Aeromonas</u> y <u>Plesiomonas</u> en niños con infecciones gastrointestinales. Este trabajo se realizo en el Hospital Privado "La Luz" bajo la direccion del

DR. SERGIO AGUILAR BENAVIDES.

Al Dr. Sergio Aguilar Benavides Por su ayuda, dedicación y amistad que me brindó en el transcurso de la carrera. Dedico el presente trabajo a mi madre, por el gran impulso, comprensión y apoyo que recibí como invaluable ayuda para el logro de mis objetivos.

A mis hermanos por su gran cariño y confianza.

INDICE.

	Pag
INTRODUCCION	1
OBJETIVO	19
MATERIAL Y METODOS	20
RESULTADOS	22
DISCUSION	26.
CONCLUSIONES	31
BIBLIOGRAFIA	32

INTRODUCCION

AEROMONAS.

El género Aeromonas está considerado como un nuevo agente de infección gastrointestinal en humanos; se ais16 por primera vez en el año de 1937, de peces, anfibios y reptiles. (1)

Pertenecen a la familia <u>Vibrionaceae</u>, por su morfología gram negativa, es un anaerobio facultativo, posee un metabolismo respiratorio y fermentativo. Habita en aguas saladas y dulces, infecta los animales de sangre fría (peces) y en los animales de sangre caliente la infección es muy rara (aves y mamíferos). (2, 3, 24)

Son organismos no esporulados de 1.0 a 4.0 micrómetros de largo y de 0.4 a 1.0 micrómetros de ancho con un flagelo polar, con una onda de 1.7 micrómetros (una excepción es la especie inmóvil de Aeromonas salmonici-da), la flagelación lofótrica es excepcional. (2, 3)

La bioquímica específica para Aeromonas fue estudiada por Eddy en los años de (1960 a 1962). Ewing y colaboradores en el año de (1961) realizaron estos mismosestudios; posteriormente Smith en (1963), Popoff (1969),

McCarty (1975) y finalmente Popoff y Veron en (1976). (9)

La bioquímica característica para Aeromonas hydrofila se muestra en la tabla número 1.

Son organismos heterótrofos que producen catalasa y oxidasa; fermentan la glucosa, maltosa, arabinosa, mano sa, trehalosa y dextrosa con la producción de ácido o -- ácido y gas. Reduce nitratos a nitritos; no descarboxila la ornitina y forma varias exoenzimas (desoxirribonuclea sa, gelatinasa, caseinasa y lipasa).

La temperatura óptima para su crecimiento es de - 30°C. y la máxima es de 38 a 40°C. con excepción de Aeromonas salmonicida, la cual crece a 37°C. (2, 3) la temperatura mínima para su crecimiento es de 10 a 15°C. - respectivamente. Algunas cepas tienen un crecimiento - más activo a 22°C. que a 37°C.; el rango óptimo de pH - varía de 5.5 a 9.0; el contenido de guanina-citosina en su DNA es de 57 a 63 moles %. (9)

Aeromonas salmonicida serológicamente es una especie homogénea; esto fue demostrado por Karlsson en el --año de (1964); posteriormente estos estudios fueron realizados por Spence y colaboradores en (1965); Popoff en (1969). (9)

TABIA 1. Características biomímicas de Aeromonas hydrofila.

PRUEBAS	A. hyirofila.	PRUEBAS A.	<u>hydrofila</u>
H ₂ S (T.S.I.)	- (0)	Ramosa	- (4)
Ureasa	- (4 <i>vi</i>)	kaltosa	+ (98,1)
Indol	a (87)	Xilosa	- (0)
Rojo de Netilo	. ()	Trehalosa	+ (100)
3700.	a (33)		d (37/2)
26°C.	a (66)	Glicerol	+ (80/9)
Citrato de Simmons	d (52/26)	Esculina	σ (<u>(</u> 00)
Crecimiento en KCN	a (58)	Melezitosa	- (0)
Movilidad	+ (98)	Manosa	+ (93)
Gelatina a 22°C.	+ (78/21)	Halonato	- {o}
Descarboxilación de	h. h.	Mucate	- (0)
la lisina.	- (6•5 ^b)	Citrato de	
Descarboxilación de		(Cristensen)	a (52/26)
la Ornitina	- (0)	Acetato de sodio	a (74/3)
Desaminación de Fe-		Lipasa (accite -	
nilalanina	d (25w)	de ma i z)	+ (98)
Glucosa: acido	+ (100)	Reducción de Nitr <u>a</u>	
gas	d (46)	tos a:	
Lactosa	d (9/28)	litritos	+ (99)
Sacarosa	d (33/4)	a: Cas	- (0)
Arabinosa	d(52/2)	Oxidana	+ (100)
Manitol	+ (99)	Catalasa	+ (100)
Dulcitol	- (0)	Crecimiento en	
Salicina	d (41/22)	Cetrimida.	- (2w)
Adoni tol	- (0)	Crecimiento en	
Inositol	- (0)	ajar Kacdonkey	+ (100)
Sorbitol	a (13/1)	Crecimiento en	
Rafinosa	- (2w)	agar Salmonella	4- 1
Crecimiento en cald	۰۵ مل	Shigella	a (85)
de NaCl al 6.5 🕏	- (o ^b)	Prueba de la cuerda	- (10)
Desoxirribonucleasa	+ (99 ^b)	Caseinasa	+ (986)
		Amilaca	+ (100b)

a, Aceptado por Ewing y Hugh (6) pruebas a 37°C.

Fuente: Von Graevenitz 1980.

d, Reacciones diferentes.

w, Reacción débil.

Los números en los parentesis indican el porcentaje de cepas positivas en 1 6 2 días/porcentaje de cepas positivas \(\sum_3 \) días.

b, Referencia de McCarty (12) de 91 cepas a 22°C. c, referencias de Richard y colaboradores (16) de 57 cepas a 37°C.

^{+,} Positivo

^{-,} Negativo

Kulp y Borden demostraron en (1942) la posibili-dad de serogrupos para las especies móviles de Aeromonas; Milles y Milles lo demostraron en (1951), Kjems (1955),-Ewing y colaboradores en (1961), Page en el año de (1962), De Meuron y Peduzzi (1979) y Leblanc (1981) en donde demostraron que se mostraban 12 antígenos "O" y 9 antíge-nos "H" dentro de este grupo de bacterias. (9)

Aeromonas hydrófila puede causar enfermedad entérica por medio de la producción de enterotoxinas, (1, -- 13) pero no existe una dictamen especial o general en cuanto al método para detectar la toxina y se han obtenido resultados que manificsten actividad tóxica.

En el caso de Aeromonas se acepta el hecho de que existen tres tipos de exotoxinas: enterotoxinas, hemolisinas y citotoxinas, (18, 21) que no siempre están presentes en la misma cepa. Para detectar cambios en la --función intestinal producida por enterotoxinas se han -- utilizado diversos modelos como ratón lactante, asa - -- ileal de conejo y perfusión de rata in vivo. (1, 18)

Se han demostrado que existen al menos dos tipos_

de hemolisinas pero algunos puntos no son claros acerca_

de si la toxina es citotóxica o citolítica. Là citotoxi

cidad no coincide con la enterotoxigenicidad, existe ma-

yor relación entre hemolisinas y enterotoxinas. (1)

En el caso de Aeromonas se ha demostrado que muchas cepas son hemoaglutinadoras de eritrocitos humanos. Esta capacidad se puede comparar con la de otro género bacteriano. Las hemoaglutininas se pueden inactivar rápidamente por calor a 55°C. lo que indica que son de naturaleza proteínica, posiblemente lectinas. Existen al menos seis tipos de diferentes lectinas, pero no coexisten en la misma cepa. Se ha demostrado que una se en cuentra en pilis y otras aparecen como proteínas de superficie. (1, 22).

Hasta la fecha hay algunas confusiones acerca de la taxonomía del género Aeromonas:

McCarty en 1975 sugigió Aeromonas punctata como - el nombre correcto para denominar a Aeromonas formicans, Aeromonas liquefaciens y Aeromonas hydrófila y también - aceptó una subespecie caviae. (2, 3)

Basándose en un análisis de 68 cepas, Popoff y -Veron reconocieron solamente tres especies:

1.- Aeromonas hydrofila con los biotipos hydrofila y -- anaerogenes.

- 2.- Aeromonas sobria
- 3.- Aeromonas salmonicida (2, 3)

Dentro de su opinión Aeromonas proteolytica debede ser excluida de estos géneros, ya que su contenido de guanina-citosina es de 50.9 moles %, por ser un halofilo y su flagelo peritrico.

Se presenta en la tabla número 2 las diferentes - reacciones entre Aeromonas hydrófila y Aeromonas sobria.

Basándose en los estudios de Schubert (1960-1971)

la novena edición del manual de Bergey enlista cuatro -especies: (9)

- 1.- Aeromonas hydrófila
- 2.- Aeromonas caviae
- 3.- Aeromonas sobria
- 4.- Aeromonas salmonicida (con las subespecies salmonicida, acromogenes y masoucida).

Las principales características diferenciales se muestran en la tabla 3.

TABLA 2. Caracteristicas diferenciales importantes de Aeromonas hydrofila y Aeromonas sobria,

(datos de Popoff y Veron)

PRUEBAS	Aeromonas hydrofila (42 cepas)		Aeromonas sobria (26 cepas)
Hidrolisis de Esculina.	+ (100)		- (19)
Crecimiento en KCN.	+ (98)	÷	- (19)
Formación de - ácido de salicina.	+ (86)		- (19)
Biotipos	hydrofila	anaerogenes	
Formación de gas- a partir de glucosa.	+ (92)	- (14)	(98)
Reacción de: Voges-Proskauer.	+ (92)	- (3)	d (58)
Producción de Elastasa	+ (92)	- (0)	- (12)
a Simbolos			

a, Símbolos

Fuente: Alexander von Graevenitz 1980.

^{+,} Positivo

^{-,} Negativo

d, Diferentes reacciones Los porcentajes de cepas positivas se encuentran entre parén tecis.

, TARIA 3. Diferenciación entre Aerosones hydrofila, Aeromenas cavide, Aeromenas cobria y Aeromenas salmenicida.

CARACT RISTICAS	1. A. hydrofila	2. A. caviae	3. A. sobria		leonicida s acrono enes	
Movilidad.				· _•		
Flagalos monotrícos en medio liquido		i	•		- .	_
Flagelog lofetricos en medio liquido	_		T		-	_
Coccepacites en peres, cadenas y racimos	_	_			_	
Bacilos aislados y en pares.	_	_	_	. <u>T</u>	T	т .
Figurento café soluble en agua.		-	_	7	-	_
Crecimiento en caldo nutritivo a 37°C.		_		T .		-
Producción do Indel en caldo de peptona 1%	T	Ŧ	T	_	-	-
- · ·	T .		. т	-	+	+
Hydrolisis de esculina.	+	+	-	+	7	+
Crecimiento en caldo KCN	+	+	_	-	-	-
Utilización de L-histidina L-arginina.	+	+	-	-	-	-
Utilización de L-arabinosa.	+	+	-	+	- .	+
Permentación de salicina.	+	+	-	ď	ď	đ
Mermentación de sacarosa.	+	+	+	, –	+	+
Fermentación de manitol.	+	+	+	+	-	+
Rompimiento de inositol.	_	_	-	· -	-	_
Acetoina de Jlucosa (Voges-Proskauer)	+	_	d.	-		+
Gan de glucosa.	+	_	+	+	-	+
H ₂ S de cisteina.	+	-	+	-	-	+

Simbolos: (+) Positivo. (-) Negativo. (d) diferentes reacciones.

Fuente: Novena edición del manual de Bergey 1984

HABITAT NATURAL Y SIGNIFICADO EN LA CLINICA.

Aeromonas hydrófila tiene una distribución cosmopolita dentro de aguas saladas y dulces (estancadas y co
rrientes); en aguas de densidades menor que uno se han en
contrado varios miles de células por m1. (2,3) y han sido encontradas en un pH que varía de 5.2 a 9.8 y a tempe
raturas de 4 a 45°C. pero no está considerada como una bacteria marina, es un halófilo; su tolerancia al cloruro de sodio se mide de 0 a 4%; ha sido aislada también de la tierra y los productos de comida; su subsistencia_
parece depender de la humedad y la presencia de materia_
orgánica. (18)

Enfermedades naturales debido a Aeromonas hydrófila se han encontrado en los anfibios, conocidas como - - "enfermedad de las piernas rojas en las ranas", la cual no es específica para Aeromonas hydrófila. (2, 3)

Reptiles o peces pueden también ser infectados o actuar como portadores. Experimentalmente estos anima-les tanto como los cuyos y ratones pueden ser infectados intravenosa o intraperitonealmente; los conejos no son - susceptibles. (2)

Se han encontrado infecciones en humanos causadas

por Aeromonas hydrófila; varios autores describen 4 classes de infección. (2)

- 1.- Celulitis o infección por heridas, relaciona-das a la exposición del agua o la tierra, ocurriendo más frecuentemente durante la estación cálida; un grupo_
 reportó el aislamiento de Aeromonas hydrófila y Aeromonas
 sobria. (2, 19, 25)
- 2.- Enfermedad diarreica aguda de corta duración, algunas veces coleriforme; esta enfermedad no está limitada a ningún área geográfica. (2, 3, 5, 6)
- 3. Septicemia, principalmente asociada con enf**er** medad hepatobiliar o infecciones malignas (cirrosis del_hígado o leucemia aguda). (2, 3, 4)
- 4.- Otras infecciones, infecciones de heridas - postoperatorias, infecciones del tracto urinario y va- rios casos de meningitis, peritonitis, otitis y endocarditis. (1, 5, 15)

Existen portadores animales y humanos; el organis mo se encontró en cultivos de excremento de 0.2 a 0.7 -- por ciento de individuos normales y en una investigación usando un medio selectivo la incidencia durante el vera-

no fue de 3.2 % en pacientes sin diarrea en un área de Nueva Inglaterra. (5) En la tabla No. 4 se muestran varios estudios realizados de pacientes con y sin diarrea en donde se observa una frecuencia de aislamiento significativo de Aeromonas hydrófila a partir de individuos con diarrea en los estudios de diferentes poblaciones.

Los estudios realizados in vitro demostraron que las especies de Aeromonas presentaron resistencia a la - ampicilina, carbenicilina y penicilina. (7, 10, 20)

De estos estudios practicados se demostró la sensibilidad a gentamicina con una inhibición del 90 %, - - cefotaxima, cefuroxima, neomicina, nitrofurantoina, cloranfenicol, netilmicina, eritromicina, cefalotina, ácido nalidixico y tobramicina. (5, 11, 14, 16, 20)

TABLA 4. Aislamiento de Aerononas hydrofila a partir de heces en diferentes grupos de población.

1958 a 1980

Números de casos positivos/ %

		•		
País	año	con diarrea	sin diarrea	proceden cia
Dinama r ca	1958	-	8/4500(0•2)	miestra de -
Francia	1964	-	31/4426(0.7)	niños meno- res de 2 - años.
India	1970	19/387(4.9)	-	casos de dia rrea coleri- forme.
Australia	1980	-	32/1250(2.6)	adultos hos- pitalizados.
Australia	1980	79/975(8.1)	7/975(0.7)	niños.

FUENTE: S.D. Holmerg y J.J. Farmer II 1984. Rev.Inf.Dis 6:634

^{*} Muestras no seleccionadas: no se especificó el número de muestras diarreicas.

PLESIOMONAS.

Solamente hay una especie del género <u>Plesiomonas</u>:

<u>Plesiomonas shigelloides</u> (Bader 1954). (2, 10)

Plesiomonas shigelloides es un anaerobio facultativo no esporulado, bacilo gram negativo filamentoso, -tiene una longitud de 2.0 a 3.0 micrómetros por 0.8 a -1.0 micrómetros de ancho; generalmente presenta un flage
lo lofotrico con una longitud de 3.5 a 4.0 micrómetros,
(Ewing y colaboradores 1961), de 2 a 4 cultivos los flagelos laterales se muestran con una longitud más corta 1.7 micrómetros. (10)

Es un organismo heterótrofo, tiene un crecimiento en caldo de peptona presentando una turbidez uniforme; - sobre agar sangre incubado a 24 horas, las colonias son de 1.0 a 1.5 mm. de diámetro, grises, opacas e incoloras, producen un pigmento café insoluble en agua; la temperatura óptima para su crecimiento ocurre entre 37 y - 38°C. y su temperatura máxima es de 40 y 44°C.; la temperatura mínima para su crecimiento es a 8°C.; no crecen caldo nutritivo con 7.5 % de NaC1, crece en un pH de 5.0 a 7.7; algunas cepas pueden crecer a pH de 8.0 perono tiene crecimiento en pH de 3.0. (10)

Bioquímicamente forma ácido a partir de glucosa, trehalosa, inositol y glicerol pero no forma gas, no fermenta almidón, glucógeno, manitol, fructuosa, sacarosa, arabinosa, esculina, rafinosa, celobiosa, salicina, sorbitol, inulina, ramnosa, xylosa, dulcitol y adonitol, --produce catalasa y oxidasa; los nitratos los reduce an itritos; la reacción de rojo de metilo es variable y es negativa la reacción de Voges-Proskauer (Shubert 1964). Cataboliza la lactosa, galactosa y manosa las pruebas de gluconato y utilización del citrato, crecimiento de KCN y producción de H₂S las da negativas, no forma exoenzimas en su óptimo y máximo crecimiento. La bioquímica característica de Plesiomonas shigelloides se muestran en la tabla número 5.

El organismo es sensible al agente vibriostatico_(2,4-Diamino 6,7-Disopropilpteridina) (2,3,10); el contenido de guanina-citosina de su DNA es de 51 moles %.(2,3)

Algunas cepas de <u>Plesiomonas shigelloides</u> comparten el antígeno común "O" con la especie <u>Shigella sonnei</u> (Sakazaki y colaboradores 1959); se estudiaron 57 cepas distribuidas en 16 grupos "O" y solamente una tuvo relación con el antígeno de <u>Shigella sonnei</u> (Quincke 1957). Shimada y Sakazaki (1978) definieron 30 antígenos "O" -

Tabla 5. Bioquímica característica de Plesiomonas shigelloides.

	·		
PRUEBAS P. shi	gelloides.	PaUEBAS P. shi	celloides.
H ₂ S (T.S.I.)	- (0)	Каллова.	- (0)
Ureasa	- (o)	Maltosa	a (55)
Indol	+ (100)	Xilosa	- (6)
Rojo de metilo	, ,	Celobiosa	- (o)
37 ^ŏ C•	- (0)	Trehalosa	+ (96/2)
26°C•	- (o) - (o)	Glicerol	a (15/68)
Voges-Proskauer		Esculina	- (0)
37°c•	- (0)	Melezitosa	- (0).
26°C•	- (0)	Manosa	d (14/3)
Citrato de Simmons	- (0)	Kalonato	- (0)
Crecimiento en KCN.	a (58)	Mucate	 (0)
Movilidad	a (85)	Citrato de	
Gelatina 22 ⁰ C.	- (0)	(christensen)	- (0)
Descarboxilación			
de la lisina	+ (96/4)	Acetato de sodio	a (2/33)
Descarboxilación			•
de ornitina	+ (100°)	Lipasa (accite	. (0)
Desaminación do	, ,	de maíz)	- (0)
Fenilalanina	d (41w)	Roducción de	
Glucosa : ácido	+ (100°)		(00)
Cas	- (0)	Eitritos	+ (99)
Lactosa	+ (65/26)		(0)
Sacarosa	- (0/6)	Uas	- (0)
Arabinosa	- (0)	Oxidasa	+ (98)
Manitol	- (0)	Catalasa	+ (100)
Dulcitol	- (0)	Crecimiento en	- (0)
Salicina Adonitol	a (32)	Cetrimida	- (0)
Inositol	- (0)	Crecimiento en	+ (91)
Sorbitol	+ (100) - (0)	agar HacConkey Crecimiento en	1 (21)
Rafinosa	- (0)	agar Salmonella	
Crecimiento en caldo	- (0)	Shigella	a (87)
de NaCl al 6.5 %	- (0°)	Frueba de la	= \ 17
Desoxirribonucleasa	- (0/4°)	cuerda	- (0)
Caseinasa	- (o ^o)	Anilasa	- (o ^c)
a, Aceptado por Ewing J	/ Hugh (6)	pruebas a 37°C.	

^{+,} Positivo Positivo d, Reacciones diferentes

FUENTE: Alexander von Graevenitz. 1980

^{-,} Negativo

w, Reacción débil Los números en los parentesis indican el porcentaje de cepas positivas en 1 6 2 días/porcentaje de cepas positivas 3 días.

b, Referencias de McCartny (12) de 91 cepas a 22°C.
c, Referencias de Richard y colaboradores (16) de 57 cepas a 37°C.

incluyendo antígenos somaticos y 11 antígenos "H" Whang_y colaboradores (1972). (10)

Factores de virulencia, se sabe muy poco acerca - de las toxinas de <u>Plesiomonas</u> y se supone que si existen no se pueden demostrar por métodos para detectar otras - toxinas. (1)

HABITAT NATURAL Y SIGNIFICADO EN LA CLINICA.

Plesiomonas shigelloides ha sido aislada de agua_
corriente y de diferentes partes, pero sin embargo más raramente que Aeromonas hydrófila, se ha encontrado en diferentes especies animales (gato, perro,ganado vacuno,
chimpancé, ovejas, osos y ostras) (Arai y colaboradores
1980); pocas especies han sido aisladas de origen extraintestinal, fueron aisladas de pacientes con síndrome -diarreico en áreas tropicales y subtropicales, ocasional
mente en Europa y Estados Unidos. (2, 3)

Casos de epidemia en pacientes con diarrea fueron atribuidos a <u>Plesiomonas</u> <u>shigelloides</u>; éste ha sido re-portado en Africa, India y Japón (Vandepitte y colaboradores 1974), Tsukamoto y colaboradores en el año de - -- (1978). (10)

En la tabla No. 6 se muestran estudios realizados en pacientes con y sin diarrea en diferentes poblaciones en donde se observa una incidencia de aislamiento significativo de Plesiomonas shigelloides.

<u>Plesiomonas shigelloides</u> es sensible a tetracicl<u>i</u>
na, ampicilina, cloranfenicol, cefalosporina, cefotaxima,
mezocilina y sulfametoxasol. (Schubert) (10)

TABLA 6. Aislamiento de <u>Plesiomonas</u> shigelloides a partir de heces en diferentes grupos de población.

1966 a 1980

Número	de	casos	positivos/ %	
--------	----	-------	--------------	--

namero de Cabos positivos, /						
País	año	con diarrea	sin diarrea	procedencia		
Checoslovaqui	a 1966	-	15/10643(0.1)	pacientes de hospital *		
India	1970	2/387(0.5)	- -	casos de dia rrea coleri- forme.		
Japón	1974	3/8(37.5)	-	brote adul		
Japón	1974	-	3/38454(0.0)	adultos		
Tailandia	1980	31/216(14.4)	25/451(5•5)	pacientes - de hospital.		

^{*} muestras no seleccionadas: no se especificó el número de muestras diarreicas.

FUENTE: S.D. Holmerg y J.J. Farmer II 1984 Rev.Inf.Dis 6:634

OBJETIVO

Investigar la frecuencia de aislamiento de Aeromonas y <u>Plesiomonas</u> en coprocultivos de niños menores de 2 años con infecciones gastrointestinales.

MATERIAL Y METODOS

Se procesaron 250 muestras de niños en el grupo - de edades de recién nacidos hasta 2 años de edad, con -- cuadro de infección gastroenteral, en el período comprendido de Febrero a Diciembre de 1985. En el laboratorio de un hospital privado, de estas muestras recolectadas, 50 fueron de control de niños aparentemente sanos.

Las muestras recolectadas de los niños con síndrome diarreico, así como la de los controles se obtuvo por toma directa, transportándolos en medios de Stuart. Es tas muestras fueron sembradas en los medios de primoais-lamiento, que fueron los siguientes:

- 1.- Gelosa sangre.
- 2.- Agar Xilosa Lisina Desoxicolato.
- 3.- Agar Verde Brillante.
- 4.- Agar MacConkey.
- 5.- Agar Eosina y Azul de Metileno.
- 6.- Agar Salmonella Shigella.
- 7. Agar Sulfito de Bismuto.
- 8.- Medio (SB-A) agar con 15 microgramos de ampicilina por ml. de agar, usando para este medio eritrocitos_
 de carnero al 5 %. (4,17)
- 9.- Caldo GN.

El período de incubación fue de 24 horas a 37°C._
practicándole a cada placa de agar la prueba de la Oxida
sa (Clorhidrato de Dimetil P-fenilendiamina). Las resiembras del caldo GN se hicieron después de 18 horas de
incubación en agar MacConkey y XLD.

Se seleccionaron las colonias oxidasa positivas - (colonias negras) a cada una de las cuales se les realizó las pruebas bioquímicas correspondientes, de acuerdo a los métodos descritos por Kelly y Farmer que consistie ron en los siguientes medios:

- 1.- Medio Mio.
- 2.- Agar de Hierro y Triple Azúcar.
- 3.- Agar Citrato de Simmons.
- 4.- Agar Urea de Christensen.
- 5.- Agar de Hierro y Lisina.

RESULTADOS.

Se procesaron 250 muestras de coprocultivos de niños y niñas de edades comprendidas entre lactantes a 2 - años de edad; 200 muestras correspondieron a infantes -- con diagnóstico de infección gastroenteral, sin recibir_tratamiento médico previo y 50 muestras de niños aparentemente sanos.

De las 200 muestras sembradas en los medios de -primoaislamiento y de enriquecimiento de los niños con infecciones gastrointestinales se aislaron las siguien-tes bacterias:

Eschericha colli el 100%, Klebsiella pneumoniae obtuvo un porcentaje del 85%, Proteus mirabilis 65%, - Klebsiella oxytoca fue aislada en un 20.5%, Enterobacter
cloacae 20%, Citrobacter freundii en un 15%, Pseudomonas
aeruginosa con un 11.5%, Sighella flexneri 11.5%, - - -Proteus vulgaris 10%, Citrobacter diversus 10%, la especie Salmonella enteritidis 8%, Enterobacter agglomerans
y Enterobacter aerogenes 5%, Shigella sonnei 1.5%; las especies con menos frecuencia de aislamiento fueron:

Providencia stuartii y Aeromonas sp con 1%; el -porcentaje más bajo correspondió a la especie Serratia -

rubideae, Serratia marcescens y Enterococo con un porcentaje del 0.5%.

De 50 muestras de niños aparentemente sanos se obtuvieron los siguientes resultados:

Eschericha coli con un 100%, Klebsiella pneumoniae con 96%, Proteus mirabilis le correspondió el 66%, Klebsiella oxytoca fue aislada en un 56%, Enterobacter cloacae 50%, Citrobacter freundii con 48%, Proteus vulgaris con un 42%, Citrobacter diversus se aisló en un 36%, -- Enterobacter agglomerans y Enterobacter aerogenes se aislaron en un 32%.

Observar tabla No. 7

De cada coprocultivo se aislaron de 3 a 4 enterobacterias y no se encontró ninguna relación entre el hallazgo de enteropatógenos y la disminución de especies encontradas.

La frecuencia de aislamiento de bacterias patógenas se encuentra en la tabla No. 8 en donde podemos observar que Shigella flexneri se encontró con mayor frecuencia; así mismo destaca el dato de que en los niños sanos que se utilizaron como control no se aisló ningún enteropatógeno.

TABLA 7. Precuencia de aislamiento de bacterias en 250 coprocultivos practicados.

ESPECIE.	CEPAS AISLADAS Enferacs 200	PORCENTAJE	CEPAS AISLADAS	PORCENTAJE
			SANCS 50	
Escharigha coli	200	100 ·	50 ·	100
Klabatalla muanunina	170	85	48	96
Brodens inclibia	130	65	33	66
Klebmiella Oxytoea	41	20.5	28	56
Ent releater closes	40	20	25	50 50
Citroboot or from lia	30	15	24	48
leon become reputitiosa	23	11.5	0	-
bhiralls flormari	23	11.5	Ö	_
Protous vulgaris	, 50	10	21	42
Citrobacter diversus	20	10	18	36
Salmonella enteritifis	16	8	ó	Õ
Enterolacter appleadrans	10	5	16	32
Enterobacter sero enes	10	5	16	32
Shiralla connoi	3	1.5	Ö	-
Providencia stuartii	2	1	Ö	-
Aeronomas sp	2	1 .	·o	~
Serratia rubideea	1	0₄5	0	_
Serratia marcoscens	1	0. 5	0	_
Enterococo	1	0.5	. 0	_

TABIA 8. Frecuencia de aislamiento de bactorias patógenes en 250 coprocultivos practicados.

ESPECIE	Cepas Aisladas de 200 hinos empermos.			CEPAS AISIADAS DE 50 NILOS SANOS.	
	No.	#	No.	%	
	,				
Shigella flexneri	23	11•5	0	0	
Salmonella, enteri	tidis 16	8	0	0	
Shicella sonnei	3	1.5	0	0	
Aeromonas sp	2	1	. 0	0	

DISCUSION.

La flora intestinal es un ecosistema muy complejo; se utilizan métodos especiales para la obtención de mues tras. Las bacterias presentes en el intestino son casitodas anaerobios sensibles al oxígeno. Los efectos más importantes producidos por las bacterias son alteraciones en la fisiología del tracto intestinal como función digestiva, capacidad secretora y de absorción y estructura de la mucosa. (26)

Numéricamente el género más importante de las bacterias intestinales en animales y humanos es el <u>Bacteroides</u>, pero existe una gran variedad de bacterias intestinales incluídas principalmente en la familia <u>Enterobacteriaceae</u>. (26)

Durante el período de estudio de coprocultivos de niños con síndrome diarreico se observa una mayor frecuencia de aislamiento de enterobacterias normales del tracto intestinal humano. Siendo aisladas con mayor frecuencia las especies Eschericha coli, Klebsiella, Proteus, Citrobacter y Enterobacter.

La gastroenteritis constituye una de las principa les causas de muerte en los países en desarrollo, lo que ha sido objeto de múltiples investigaciones por investigadores de todo el mundo.

Las bacterias capaces de producir diarrea se dividen en dos grupos: (27)

1.- Las que se multiplican en el intestino delgado sin invadir la mucosa intestinal, las especies más conocidas son Vibrio cholerae y algunas cepas de Eschericha coli, que causan gastroenteritis al multiplicarse en el intestino delgado y liberar toxinas.

Eschericha coli produce 3 toxinas diferentes, que pueden ser transferidas de una bacteria a otra mediante la conjugación sexual y aún entre bacterias de especies diferentes como <u>Klebsiclla</u>, <u>Pseudomonas</u>, <u>Citrobacter</u>, -Enterobacter y algunas cepas de <u>Proteus</u> que son producto ras de enterotoxinas.

Eschericha coli presenta una toxina denominada -termolábil que es capaz de estimular la producción de -anticuerpos y otra termoestable.

La diarrea producida por Eschericha coli está - - clasificada de acuerdo al tipo de diarrea que produce: - E. coli enterotoxigénica produce diarrea en infantes y -

adultos y su patogenicidad es similar a la de <u>Vibrio</u> - cholerae.

- E. coli enteroinvasiva produce disentería.
- <u>E. coli</u> enteropatogénica produce diarrea infantil pero por un mecanismo diferente al de <u>E. coli</u> enteroxi-genica. (27)

No se practicó prueba de actividad enterotoxigénica a ninguna de las cepas aisladas, ya que el estudio realizado fue para determinar la frecuencia de aislamiento de Aeromonas y Plesiomonas; se desconoce si estas enterobacterias comensales del tracto intestinal fueron realizado fue infección gastroenteral en la población de infantes.

2.- Tradicionalmente se ha considerado a las especies Salmonella y Shigella como los principales agentes de infección gastrointestinal en niños y adultos. Shigella causa invasión y destrucción de la mucosa intestinal que generalmente se limita a células, epitelio y posiblemente la submucosa.

Salmonella penetra al tejido submucosa que invade el epitelio sin destruirlo y penetra hasta la lámina propia en donde produce una respuesta inflamatoria y las bacterias son llevadas a la circulación causando septicemia. (26)

La microbiología intestinal se ha visto modificada por los estudios realizados en los laboratorios de -Estados Unidos, Europa, Australia, de hecho de todo el -mundo, donde se han aislado nuevos agentes de infección_
gastroenteral en humanos; citaremos a los que con más -frecuencia son aislados: Acromonas, Plesiomonas y Yersinia; estas dos últimas no se lograron aislar en el traba
jo realizado.

Estudios realizados por otros investigadores como Burke y colaboradores (16), Dr. von Graevenitz (2) han reportado el aislamiento de Aeromonas en niños con síndrome diarreico, Salmonella y Shigella fueron aisladas en forma significativa.

Otros investigadores lograron aislar Aeromonas - asociadas a gastroenteritis en niños; la frecuencia de - aislamiento es mayor en las estaciones cálidas. (17)

En México se logró aislar Aeromonas hydrófila de niños con diarrea de larga evolución, con una frecuencia de aislamiento del 10%. (28)

Se hace una comparación de los resultados obtenidos en el trabajo realizado en donde se observa una mayor frecuencia de aislamiento de Salmonella y Shigella en niños con infección gastrointestinal durante el verano en nuestra población infantil aislándose con más frecuencia que otras especies patógenas aisladas en otros países; esto hace pensar que los climas de los diferentes países pueden ser la causa de que haya más frecuencia de aislamiento de algunas bacterias que de otras.

CONCLUSION.

Este estudio se realizó para observar la frecuencia de aislamiento de Aeromonas y Plesiomonas en la población infantil con diagnóstico de infección gastrointestinal. Aeromonas fue aislada en 1% de muestras que correspondieron a niños de 2 años y no se logró aislar de lactantes. Plesiomonas shigelloides no se aisló en ninguna de las muestras sembradas.

El trabajo realizado demuestra que las especies - Salmonella y Shigella son los principales causantes de - síndrome diarreico en la población de infantes en nues-tro medio, aislándose en un porcentaje significativo.

El diagnóstico de laboratorio para el aislamiento de Aeromonas no es tan complejo y en un futuro el acúmulo de información y estudios básicos definan su enteropatogenicidad de esta bacteria.

En resumen, el trabajo nos revela que hay un alto findice de <u>Salmonella</u> y <u>Shigella</u> que de otros enteropatógenos y su aislamiento focal se asocia más frecuentemente a infección gastrointestinal.

- 1.- González E, E. Reyes, C. Conde, E. Calderón 1985 Aeromonas y Plesiomonas, Infectol. 6:164-168.
- 2.- von Graevenitz 1980 Aeromonas and Plesiomonas In -- E.H. Lennette, Manual of Clinical Microbiology - Third edition, Washington A.S.M. 220-225.
- 3. von Graevenitz 1985 Aeromonas and Plesiomonas In - E. H. Lennette, Balows, Hauster and Shadomy, Manual of Clinical Microbiology, Fourth edition Washington A.S.M. 278-281.
- 4.- Pearson T.A. Mitchell, C.A. and Hughs W.T., Aeromonas hydrofila septicemia. Am J. Dis. Child 123: 579, 1972.
- 5.- von Graevenitz Λ., and A.II. Mensch 1968 The genus --Λeromonas in human bacteriology, report and review of the literature, N.Engl.J.Med. 278: 245-249.
- 6.- Burke, V., M. Gracey, J. Robinson, D. Peck, J. Beaman and C. Bundell. 1983. The microbiology of childhood gastroenteritis Aeromonas species and other infective agents. J. Infect. Dis. 148:68-74.
- 7.- Champsaur, H., A.D. Andremont, E. Mathieu, Rottman and P. Auzepy. 1982. Cholera-like illnes due to -- Aeromonas sobria. J. Infect. Dis. 145:248-254.
- 8.- Blaser, M.J., and R.A. Feldman. 1981, Salmonella -- bacteremia; reports to the centers for Disease control, 1968-1979. J.Infect.Dis. 143:743-746.
- 9.- Popoff, M. 1984 Genus III, Aeromonas Kluyver and van Niel 1963, p. 545-548. In N.R. Krieg and J. G. Holt (ed), Bergey's manual of systematic bacteriology, -- vol. 1, The Williams-Wilkins Co. Baltimore.
- · 10.- Schubert, R.H.W. 1984 Genus IV. Plesiomonas Habs and Schubert 1962, In N.R. Krieg and J.G. Holt (ed.), Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 1. The Williams-Wilkins Co., Baltimore 324:548-550.

- 11.- Fass, R. J., and J. Barnishan, 1981. In vitro susceptibilities of Λcromonas hydrofila to 32 antimicrobial agents, Λntimicrob. Agents Chamother 19: -357-358.
- 12.- Pitarangsi, C.P.R. Echeverría, C. Whitmire, Tirapat, S. Formal, G.J. Dammin. and M.Tingtalapong 1982. -- Enteropatogenicity of <u>Acromonas hidrofila</u> and <u>Plesiomonas shigelloides</u>: prevalence among individuals with and without diarrhea in Thailan Infect. Inmun. 35:666-673.
- 13.- Burke, V. Robinson, J. Cooper, M., Beaman, J. Partridge, K., Peterson, D., y Gracey, M. 1984 Biotyping and Virulence Factors in clinical and Enviromental Isolates of Λeromonas Species Λppl, Environ. Microbiol.47, 1146-1149.
- 14.- Feaster, F.T., R.M. Nisbet, and J.C. Barber 1978. Aeromonas hydrofila corneal ulcer. Am, J. Ophthal-mol. 85:114-117.
- 15.- Hanson, P.G., J. Strandridge, F. Jarett, and D. G. Maki. 1977. Freshwater wond infection due to Aeromonas hydrofila, J. Am. Med. Assoc. 238:1053-1054.
- 16.- Gracey, M., V. Burke and J. Robinson, 1982. Aeromonas associated gastroenteritis. Lancet: 1304-1306.
- 17.- William A. McCormick, J.D. and M.J. Gurwithm Clinical an microbiological features or Aeromonas hydrofila-associated diarrhea 1985. J. Clin. Microbiol. p. 909-913.
- 18.- Seidler, R.J., Allen, D.A. Lockman, H. Colwell R.R. Jseph, S.W. and dayly G. 1980. Isolation enumerations and charecterization of <u>Aeromonas</u> from poluted waters encountered in diving operations Appl -- Environ, Microbiol. 39:1010-1018.
- 19.- Daily, O.P. et al. 1981. Association of Aeromonas sobria with human infections. J. Clin. Microbiol. 13:769-777.

- 20.- Fainstein V. Weaver, S. and G.P. Bodey In Vitro -susceptibilities of Aeromonas hydrofila against new antibiotics 1982. Antimicrob. Agents Chemother 22: 513-514.
- 21.- Burke V. Robinson J. Atkinson IM, et al: Biochemical characteristics of enterotoxigenic Aeromonas -- spp. J. Clin.Microbiol. 1982; 15:48-52.
- 22.- Janda, J.M.E.J. Bottone, C.V. Skinner, and D. Calcaterra. 1983. Phenotypic markers associated with gastrointestinal Aeromonas hydrofila isolates from symptomatic children. J. Clin. Microbiol.17:588-591.
- 23.- Moulsdale M.T. Isolation of Aeromonas from faeces.-Lancet 1983, 8320-351.
- 24.- Gilardi, G. L. Aeromonas y Plesiomonas. J. Clin. -- Microbiol. 1983 5:49-51.
- 25.- Gelbart, S. M. et al. Am a case report, Aeromonas sobria gastroenteritis in a Adult J. Clin. Pathol.-1985. 83:389-391.
- 26.- Drasar, B.S. and Barrow, P.A. (1985) Intestinal Microbiology. Aspects of Microbiol. 10:18-41.
- 27.- Olarte, J. Etiopatogenia de las diarreas infecciosas. Bol.Med.Hosp.Infant.Mex.1985,42:66-72.
- 28.- Resúmenes del XVIII Congreso Nacional de Microbiolo gía celebrado del 27-30 abril de 1987 en Acapulco, Guerrero.



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA Facultad de Ciencias

Expediente

324/85

Sr. Arturo Ramirez Castro Presente. -

Manifiesto a usted que con esta fecha ha sido aprobado el tema de tesis "Frecuencia de Aislamiento de Ac romas y Plesiomonas en niños con Infecciones Gastrointesti_ nales" para obtener la Licenciatura en Biología, con Orien_ tación en Biomédica.

Al mismo tiempo informo a usted que ha sido acep tado como Director de dicha Tesis el Dr. Sergio Aguilar Bena vides.



ATENTAMENTE "PIENSA Y TRABAJA" Guadalajara, Jal., Junio 21 de 1985.

El Director

Ing. Edmundo Popce

El Secretario

Arq. Marix Patricio Castillo Paredes.

C.C.p. El Dr. Sergio Aguilar Benavides, Director de Tesis.-Ptc.

expediente del alumno.

'mjsd.

BOULEVARD A TLAQUEPAQUE Y CORREGIDORA, S. B., TELEFONOS 17-58-29 Y 17-48-17 Dr. CARLOS ASTENGO OSUNA Director de la Facultad de Ciencias Universidad de Guadalajara Presente.

Por este conducto hago constar que el Pasante de la Carrera de Licenciado en Biología, Arturo Ramírez Castro, ha concluído la tesis titulada - FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE AEROMONAS Y PLESIOMONAS EN NIÑOS CON INFECCIONES GASTROINTESTINALES, y despúes de haber revisado el manuscrito de la misma, considero que cumple con los requisitos establecidos - por la Facultad para que se imprima.

Sin otro particular quedo de usted

Atentamente

Dr. SERGIO AGUILAR BENAVIDES