

370127

9
2ej

Universidad Autónoma de Guadalajara

Incorporada a la Universidad Nacional Autónoma de México

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE AEROMONAS hydrophila,
A. caviae y A. sobria A PARTIR DE HECES HUMANAS.

T E S I S
 QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
 QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
 P R E S E N T A
 BENJAMIN GONZALEZ TOPETE

Asesor: Q.F.B. Ma. del Socorro Pulido García
 GUADAJAJARA, JALISCO 1988

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

I N D I C E

Capítulo 1 Introducción	225
1.1.1 Generalidades	6
1.1.2 Generalidades	10
2.1 Aspectos microbiológicos de <u>Aeromonas</u>	11
2.1.1 Taxonomía y nomenclatura.	11
2.1.2 Características morfológicas y bioquímicas.	11
2.1.3 Estructura antigénica.	12
2.1.4 Epidemiología y patogenicidad.	13
2.2 Aspectos clínicos de las infecciones causadas por <u>Aeromonas</u> .	13
2.3 Ampliación microbiológica de las espe- cies del género <u>Aeromonas</u> .	14
2.3.1 <u>Aeromonas hydrophila</u> .	14
2.3.2 <u>Aeromonas caviae</u> .	17
2.3.3 <u>Aeromonas sobria</u> .	18
2.3.4 Nueva especie ornitina positiva " <u>Aeromonas veronii</u> ."	18
 Capítulo 3 Material y Métodos	 39
3.1 Metodología del aislamiento de <u>Aeromonas</u>	40
3.2 Perfil bioquímico para la identificación de especies del género <u>Aeromonas</u>	40
3.3 Esquema de identificación para <u>Aeromonas</u>	41
<u>sp.</u>	
3.4 Descripción de los pruebas bioquímicas para la identificación de especies de <u>Aeromonas</u>	43

Capitulo 4 Resultados

Si

Capitulo 5 Conclusiones

Se

Capitulo 6 Bibliografía

Si

CAPITULO 1

INTRODUCCION

INTRODUCCION

La finalidad de este estudio fue el aislamiento y la implementación de un perfil bioquímico práctico y accesible que ayudara a la confiable identificación de las especies de género Aeromonas aisladas a partir de productos biológicos humanos .

Atraves de 20 años , el estado taxonómico de las especies dentro del género Aeromonas ha sufrido varios cambios . Antes, las Aeromonas móviles eran clasificadas dentro del complejo Aeromonas hydrophila .

Reciente estudios, se basan primordialmente en la taxonomía numérica y la secuencia de polinucleótidos relacionados ; Recomendando la diferenciación de tres especies de Aeromonas móviles, llamadas: Aeromonas hydrophila , A. sobria, y A. caviae.

Dentro de cada especie la reasociación cinética de DNA-DNA, indican , sugiriendo que hay mas biovariedades y pueden ser subsecuentemente delineadas . (16)

En 1976 Popoff y Véron , describieron un número de propiedades fenotípicas usadas para la separación de las tres especies de Aeromonas .

Un reporte previo de ese estudio mostró una asociación distinta de propiedades con cada una de estas especies de Aeromonas .

En las investigaciones sobre el complejo Aeromonas hydrophila se tiene recientemente establecida la asociación -

entre diferentes biotipos de Aeromonas hydrophila y la enterotolerancia, citototoxicidad y virulencia en ratones.

De las Aeromonas aisladas se ha demostrado que hay además una relación entre las especies y el potencial de virulencia en la producción de enfermedades coleriformes y males específicos asociados a síndromes específicos.

El género conocido como Aeromonas pertenece a la familia Vibrionaceae; se encuentran entre los llamados nuevos agentes productores de diarrea en el humano, lo que ha sido determinado por estudio de correlación microbiológica en diferentes países y por investigación de mecanismos de patogenicidad específicos, como toxinas, descubiertas recientemente en Aeromonas. (18)

La cepa original fue aislada por Ernst en 1890 de una zoonosis llamada enfermedad de la pata roja en las ranas y no fue sino hasta la década de los sesentas cuando se empezaron a efectuar aislamientos particularmente de heces humanas.

Las infecciones en el hombre ocurren predominantemente durante el período de mayo a noviembre debido probablemente a la relación de esta bacteria con el agua.

En lo que se refiere a su epidemiología, Aeromonas tiene una distribución cosmopolita, están ampliamente distri-

1

buffas en aguas que fluyen así como en aguas estancadas, en agua salada que interfiere con agua dulce y a agua de cloacas con densidades que van de uno a varios cientos o miles de células por mililitro.

Como dato importante el aislar Aeromonas de agua es indicativo de contaminación.

Habitualmente la transmisión de Aeromonas suele ocurrir através de traumas. En los últimos 20 años Aeromonas ha sido relacionada con procesos infecciosos en humanos.

Actualmente el diagnóstico de laboratorio sobre esta bacteria no es tan complejo y es de esperarse que en el futuro el acúmulo de información epidemiológica y estudios básicos definan la aparente patogenicidad de esta bacteria.

Los datos sobre infecciones en individuos normales parece ir en aumento, y los mas frecuentes se refieren particularmente a casos de gastroenteritis.

CAPITULO 2**GENERALIDADES**

GENERALIDADES

2.1 ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DE AEROMONAS.

2.1.1 TAXONOMIA Y NOMENCLATURA.

Aeromonas pertenece a la familia Vibrionaceae; Género 1: Vibrio.

Toxonómicamente existen dos grupos de Aeromonas:

1.- Grupo móvil, indol positivo, que crece óptimamente a 35-37°C, en estudios recientes de su taxonomía (1964) se demostró que existen solo 3 especies en este grupo y las cepas que no concuerdan con todas las pruebas pueden ser variantes raras de estas especies.

Las especies encontradas son Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria y Aeromonas caviae como la especie anaeróbica.

2.- Grupo inmóvil, de crecimiento óptimo a 20°C es inhábil para desarrollar a 37°C, y comprende la especie salmonicida con las subespecies: salmonicida, achromogenes y masoucida.

Produce un pigmento melanínico en agar conteniendo tirosina. Ninguna infección humana debida a esta bacteria ha sido reportada, causa furunculosis en el peccado y con más frecuencia en el salmón. Es de importancia económica en la industria pesquera.

2.1.2 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y BIQUÍMICAS.

Aeromonas, son bacilos Gram negativos semejando

Bastoncillos cocoides, que tienen medidas de longitud en los 1.3 y 4.4 μ m. y 0.4 a 1.0 μ m de ancho, ocasionalmente forman filamentos, pueden presentarse solos, en pares o en cadenas.

Son móviles por un único flagelo polar, generalmente monotrico, aunque existen especies no móviles.

Son anaerobios facultativos, quimioorganotróficos, hidrolizan la cafeína, licúan la gelatina, reducen los nitratos a nitritos, con oxidasa y catalasa positivos.

Su rango de crecimiento es de 0-41°C, pero su temperatura óptima es de 28-30°C, aunque existen especies que no crecen a 37°C. Su crecimiento se restringe a un rango de pH de 5.5-9.0, no son sensibles al agente antibiostático (O/129) 2,4-diamino-6,7-disisopropilpteridina.

Su relación Citosina-Guanina en LNA es de 57 a 63 moles%.

2.1.3 ESTRUCTURA ANTIGENICA.

Varios factores tóxicos han sido analizados de cultivos de Aeromonas hydrophila como son: la leucocidina, hemolisina y citotoxina.

Se han detectado anticuerpos como, antihemolisina, aglutinina, precipitinas en pacientes que han sufrido infecciones agudas y no en aquellos con infecciones superficiales.

Se ha encontrado utilidad en los tóxicos de cuerpos fluorescentes para la identificación de Aeromonas hydrophila.

2.1.4 EPIDEMIOLOGIA Y PATOGENICIDAD.

Tienen una distribución cosmopolita. Se ha aislado de aguas saladas con corriente o estancadas y también en aguas negras.

Como su nombre la indica (hydro-agua, phila-atracción), el habitat natural de Aeromonas es el agua; también reside en desagües de pilotas y se puede recuperar de tuberías de agua corriente y destilada siendo considerada fuente potencial en infecciones intrahospitalarias.

También se ha aislado de heridas, sangre, heces, orina, pus, y esputo.

2.2 ASPECTOS CLINICOS DE LA INFECCIONES CAUSADAS POR AEROMONAS.

Se describen cuatro tipos de infecciones en humanos causadas por Aeromonas:

- 1) Enfermedades diarreicas agudas de corta duración, algunas de forma colérica y en ocasiones disenteriforme, ocurriendo indiferentemente en cualquier area geográfica y no respetando edad.

Las especies predominantemente aisladas son Aeromonas hydrophila y Aeromonas sobria. Recientes reportes indican una incidencia importante principalmente en

Centro y Sur América, África y Asia. (20)

2) Celulitis o infecciones en heridas relaciona--
das con la exposición a tierra o agua, ocurriendo mas fre--
cuentemente en tiempo de calor.

3) Septicemia frecuentemente asociada a enfermeda--
des hepatobiliares o malignas, particularmente leucemia _
aguda.

4) Otras infecciones como: meningitis, peritoni--
tis, endocarditis, otitis e infecciones postoperativas __
del tracto urinario.

Los síntomas clínicos de la enfermedad gastroin--
testinal producida por Aeromonas, cuando es moderada, la _
curación tiende a ser espontánea; la diarrea es acuosa, _
no mucóide y sin sangre en la mayoría de los casos, aun--
que en casos severos puede ser verdosa y con sangre; la _
duración de la enfermedad es de 1 a 7 días en individuos _
normales, pero en infantes o pacientes inmuco-comprometi--
dos puede ser mucho mayor.

El diagnóstico en el laboratorio se efectúa a _
partir del cultivo de heces. Normalmente esto no se reali--
za en laboratorios de rutina y en ocasiones estos microor--
ganismos pueden confundirse con enterobacterias, si no se _
practician las pruebas bioquímicas de confirmación.

La variedad de medios de cultivo selectivos pa--
ra el aislamiento de Aeromonas se basa en que estas bac--

terias son resistentes a la ampicilina.

Aeromonas crece rápidamente en medios convu-
cionales como son agar sangre, Salmonella-Shigella, MacCon-
key, XLD, y EHE.

Algunas cepas fermentan la lactosa en medios co-
mo el MacConkey y haciéndolas indistinguibles de Escheri-
chia coli y pueden dar falsas negativas en la prueba de ___
oxidasa, lo cual resulta por los cambios de pH hasta menos
de 5.2 por la fermentación de los azúcares.

Su aislamiento se puede incrementar usando un ___
medio como el desoxicolato citrato agar en el que se pre-
sentan como colonias lactosa negativas.

Para aislar Aeromonas de heces humanas se reco-
mienda usar el medio de agar sangre ampicilina 1mg/100ml ___
como primoaislamiento, en este medio las colonias miden de
1-2 mm. de diámetro, son blancas a grises y pueden estar ___
rodeadas de una zona de hemólisis Beta (β). (14)

Se puede detallar que en la fase de diarrea agu-
da, estos agentes se encuentran en grandes cantidades, por
lo tanto se requiere de aislamiento en medio no selectivo ___
para demostrar su elevada proporción con relación a otros ___
componentes de la flora intestinal, lo que puede ser indi-
ce de actividad patógena.

En cuanto al manejo de estas infecciones causa-
das por Aeromonas en individuos normales no se recomienda ___

Algunas bacterias, para su control se presentan con frecuencia a hidrofilas una forma crónica se ha utilizado tetraciclina, trimetoprim, sulfas, cloramfenicol y aminoglicosidos que son generalmente activos "in vivo" contra Aeromonas.

Frecuentemente pueden presentar resistencia a los antibióticos; carbenicilina, eritromicina, cefalosporina y polimixina, además que prácticamente todas son resistentes a penicilina y ampicilina.

En Africa se han descrito cepas resistentes a tetraciclina, cloramfenicol y estreptomicina. (4)

2.3 ANALISIS MICROBIOLOGICO DE LAS VIBRIAS DEL GEMERO AEROMONAS.

2.3.1 Aeromonas hydrophila.

Chester. (1901), Bacillus hydrophilus.

Origen del nombre: hidro-aqua, philo-a atracción al agua.

Medidas: 0.3-1.0 μ m. de ancho y 1.0-3.5 μ m de largo.

Móviles gracias a un flagelo polar único que ayuda al desplazamiento en el agua.

No es capsulada.

Optimo crecimiento a la temperatura de 25°C aunque crece a temperaturas más altas.

En agar nutritivo las colonias son blancas o _____
cremosas, circulares y convexas con bordes enteros.

Las cepas pueden usar L-histidina, L-arabinosa, L-
I-arginina y salicina como única fuente de carbono.

Estas bacterias hidrolizan los principales bio-
químicos como la esculina, fermentan la Salicina, crecen _____
en el medio KCN, producen gas y acetoina de la glucosa, y
producen H₂S de cisteína.

Pueden ser patógenas en ranas, peces y mamíferos,
incluyendo al hombre.

El porcentaje molar de Guanina-Citosina del ran-
go de DNA es de 59-62%.

Cepa tipo: ATCC 7 9 6 6.

2.3.2 Aeromonas caviae.

ex Eddy (1962)

Nombre genérico, caviae del conejillo de Indias
Morfológicamente y de características de cultivo similares
a las indicadas para Aeromonas hydrophila.

Sus cepas usan la L-histidina, L-arabinosa, L-argi-
nina y salicina como única fuente de carbono. Estas bac-
terias hidrolizan la esculina, crecen en KCN, fermentan la
salicina y no producen tampoco H₂S de cisteína.

Se encuentran habitando en peces, agua corriente
o en estanques.

El porcentaje molar Guanina-Citosina esta en los
rangos de DNA de 61 a 63%

Cepa tipo: ATCC 1 5 4 6 8

3.1.3 Aeromonas sobria

Penafiel y Moron (1976)

Morfológicamente y de características de cultivo similares a las señaladas en Aeromonas hydrophila.

Estas bacterias no utilizan L-histidina, L-arabinosa, L-arginina y salicina como una fuente única de carbono.

Aeromonas sobria no hidroliza la esculina y no crece en el medio de KCN y tampoco fermenta la salicina, pero en cambio sí produce gas de glucosa y forma H_2S a partir de cisteína.

Crece y sobrevive en agua corriente y en peces.

Su porcentaje molar Guanina-Citosina está dentro del rango de 58-60%.

Cepa tipo: CIF 7 4 3 3

Aeromonas salmonicida

Lehmann y Neumann (1896).

Bacterium salmonicida salmonis-salmón, cida-matar asesina de salmón.

Cocobacilo; que no pasan de largo a un par de veces el ancho de la bacteria.

En caldo nutritivo se pueden encontrar en pares, cadenas o racimos que son usualmente observados en preparación de contraste de fases. No son móviles, y tampoco encapsulados.

Su óptimo crecimiento es a temperaturas de 22 o 25°C. Las colonias son de forma circular, planas, y característicamente translúcidas.

Se encuentran y causan enfermedad en los peces _
salmones, causando furunculosis.

También pueden causar serias infecciones en otros
peces. No se encuentran en la superficie del agua.

El porcentaje molar Guanina-Citosina de DNA esta
en el rango de 57 a 51.

Las sub-especies son:

Aeromonas salmonicida sub-especie salmonicida _
cepas productoras de pigmento café en solución acuosa con-
teniendo 0.1% tirosina o fenilalanina, no produce indol, _
hidrolizan la esculina y fermentan manitol

sub-especie achromogenes _
como su nombre lo dice, no produce color como la anterior,
pero si produce indol, no hidroliza la esculina, ni fermenta
el manitol.

sub-especie masoucida _
cepa no productora de color, pero que sin embargo producen
indol, hidroliza la esculina y fermenta el manitol .

Cepa tipo: salmonicida ; NCMB 1 1 0 2
achromogenes; NCMB 1 1 1 0
masoucida ; ATCC 27013

nitroto, L-arginina, D-serbital, D-glucitol, D-galactitol, D-inositol, lactosa, rafinosa, L-ramnosa, D-sorbitol y D-xilosa.

La reacción positiva de descarboxilación de la ornitina, diferencia a Aeromonas veronii de las otras especies de Aeromonas, el antibiograma de Aeromonas veronii es típico de otras cepas de Aeromonas (resistentes a la penicilina, carbenicilina y es susceptible a otros agentes), Aeromonas veronii fue aislado de 3 entidades clínicas: secreción respiratoria de 4 víctimas, infección de heridas de dos pacientes que se expusieron previamente en agua fresca (probablemente no tenga significado clínico) y de muestras de 3 pacientes con diarrea (probablemente de significado clínico).

En un estudio hecho de 147 aislamientos de Aeromonas, el 50% de Aeromonas hydrophila, 25% de Aeromonas sobria, el 25% de Aeromonas caviae, obtenidas de heces y heridas, mientras que Aeromonas sobria está más comúnmente asociada a bacteremia. (5)

Los reptiles o peces pueden estar infectados o actuar como transmisores.

Experimentalmente los animales como el cerdo y ratones pueden ser infectados intravenosa o intraperitonealmente.

También se le ha aislado de tierra y la sobrevivencia parece depender de la humedad y la presencia de materia orgánica.

Aeromonas hydrophila y Aeromonas sobria, posteriormente, han sido aisladas más comúnmente de pacientes con diarrea más que de pacientes con heces normales. La infección en humanos puede ocurrir através de traumas o ingestión de agua o alimentos contaminados.

Pacientes con enfermedades hematológicas parecen ser más susceptibles a la infección por este organismo.

Aunque Aeromonas hydrophila parecía ser la más comúnmente aislada en infecciones humanas, un reporte reciente (1982), indica que Aeromonas sobria fue la más comúnmente asociada y que podría ser más virulenta. (5)

Este organismo se ha encontrado en cultivos de evacuaciones normales en una rango de 0.2-0.7, usando un medio selectivo.

En Australia se hizo un estudio sobre 375 niños con diarreas en el cual Aeromonas hydrophila ocupó el 10.3%. (1)

Aeromonas sp. debería ser incluida en la lista de posibles patógenos entéricos buscados en estudios de procesos diarreicos y este organismo no sería tan difícil de identificar si los laboratorios adoptaran métodos apropiados para su aislamiento.

Se reportó un caso de un hombre con disentería prolongada con repetidos aislamientos de Aeromonas hydrophila en cultivos de heces y una recuperación total del paciente después del tratamiento con cotrimoxazole. (1)

El filtrado de un cultivo produjo un incremento en la permeabilidad vascular en pruebas de ileon de conejo, lo cual sugirió que este organismo fuera enterotoxigénico. (9)

En un estudio prospectivo a 18 meses, con 975 niños de 6 meses y otros control del mismo sexo y edad sin diarrea, fueron estudiados reportadores que la enterotoxina de Aerobacillus se encontró en el 10.8% de los casos de pacientes con diarrea, no así en los que no presentaban la misma, siendo en otros niños de tan solo 0.7%. La mayoría de las especies de Aerobacillus se aislaron en el verano y otros patógenos importantes, no parecieren ser muy importantes en el oeste de Australia. (1)

Las especies enterotoxigénicas de Aerobacillus pueden ser identificadas con un 97% de exactitud, utilizando un ensayo de hemolisina, mismo que debería considerarse como de rutina sobre todo en hospitales infantiles.

En este estudio se demostró que las especies enterotoxigénicas de Aerobacillus son importantes agentes causales de gastroenteritis en niños. (1)

En el mismo estudio el principal objetivo de esta referencia era estimar la importancia de Aerobacillus, se presentó la oportunidad de comparar incidencia de Aerobacillus con otros agentes patógenos como son Salmonella y Shigella entre otros. Sin embargo no fue posible comparar con otros como Clostridium difficile, especies de Yersinia, Bacillus cereus y otras enterobacterias incluyendo especies de Klebsiella.

La recolección de los aislamientos mostró: Salmonella, 5.7%; Shigella, 1.3%; Campylobacter, 7.4%; ETEC,

1.9%; y rotavirus, 12.7%.

De las especies enteropatógenas de Aeromonas, y el promedio de aislamiento de Salmonella, Shigella, Shigellobacter y EPEC, fue significativamente más grande en pacientes con diarrea que en los que no la presentaban.

Del mismo estudio los pacientes con diarreas el 24% tuvieron uno o más de estos reconocidos agentes patógenos en las heces, mientras que en los que no estaban enfermos, menos del 2% tuvieron aislamientos.

La diferencia entre los pacientes con diarrea y el grupo control, fue menos marcada para el rotavirus que para las bacterias patógenas; al comparar las muestras para rotavirus por la prueba de ELISA, fue de 12.7% y de 11.1% respectivamente para los enfermos y los pacientes control.

El promedio de detección de rotavirus disminuyó cuando se empleó el microscopio electrónico, no hubo una diferencia significativa entre los pacientes con diarrea y los que no la padecían, para la prueba de Rota-enzima se notó mayor sensibilidad que el promedio del grupo con microscopía electrónica.

La patogénesis de los cambios observados en la mucosa intestinal no se ha definido bien y puede ser modificada por la interacción con el huésped.

Una característica importante fué el aislamiento de Aeromonas en las últimas fases del verano, esto puede estar relacionado con las características del clima, así como a los métodos de aislamiento.

Las especies de Aeromonas son encontradas en ___ grandes cantidades en el agua corriente.

La clasificación de Aeromonas en relación a la producción de enterotoxina y a la prueba de la hemolisina, discrimina entre las enterotoxigénicas positivas y negativas con una exactitud del 97%.

La importancia de las enterotoxigénicas positivas de Aeromonas sugiere que ello debería motivar su estudio rutinario en muestras de heces diarreicas.

En un trabajo de aislamiento de especies de Aeromonas, de un cultivo de heces, se encontró que produce actividad una enterotoxina que fué determinada por ensayo de filtrados del cultivo en intestino delgado de conejos, en piel de conejos, y en células adrenales "Y₁".

Hemolisinas y una proteína citotóxica fueron encontradas interfiriendo en los tres sistemas analizados, pero pudieron ser inactivados bajo el calentamiento a 50°C o por antihemolisina específica.

Biotificando cada aislamiento, fue determinada con el test del sistema convencional y con API 50[®] y Api-zym sistemas.

Además de los agentes causantes de cólera clásico (Vibrio cholerae), existen otros miembros del género Vibrio recientemente descubiertos como causantes de enfermedades agudas diarreicas, por la producción de una enterotoxina extracelular. A parte de muchos estudios concernientes a la enterotoxigenicidad de Escherichia coli causando una enfermedad como cólera, en niños y adultos, recientes

investigaciones vienen a demostrar la posibilidad de que otros miembros de la familia Enterobacteriaceae o los organismos oxidasa positivos como Aeromonas y klebsiella produzcan enterotoxinas.

Cuatro reportes recientes de países asiáticos y un estudio publicado en Ceilán describen a Aeromonas hydrophila como posible causante de enfermedades agudas diarreicas. Reportes recientes del hemisferio oeste, también señalan que Aeromonas hydrophila puede encontrarse en individuos normales que están bien y en heces de pacientes con síntomas gastrointestinales. (12)

En otro estudio reciente de la clínica pediátrica Ethio-Swedish en Addis Abeba, Etiopía, solo una parte de los aislamientos que encontraron fueron por Escherichia coli, las otras partes pertenecen a otras especies de enterobacterias, excepto 11 cepas oxidasa-positivas de organismos identificados como Aeromonas hydrophila (4)

El 1er. reporte sobre la detección de enterotoxinas en filtrados de cultivos de este organismo fué publicado recientemente. (4)

La producción extracelular de enzimas y toxinas para cada cepa aislada fué ensayada en placas de agar como métodos: proteasa en agar proteosa, leche semidescremada, elastasa en agar elastina, de oxirribonucleasa en agar de ácido-desoxirribonucleico, fosfolipasa en agar

lecitina y lípido en su tributaria. Las últimas 2 en ---
 clase de Coliformos que se usó de base, la producción
 de hemolisis. Causa de actividad en agar que contenía eri-
 trocitos de caballo o de carnero.

Todas las 11 cepas enterotoxigénicas examinadas
 produjeron ácido de la glucosa, ribosa, D-(+)-levulosa, ___
 D (+) manosa, maltosa, D (-) trehalosa, N-acetil glucosami-
 na, dextrina, glucógeno, manitol y glicerol.

Pero fueron negativas para D(-) arabinosa, D(+)-
 xilosa, L(-) sorbosa, ramnosa, D-(+) melitosa, amilosa, ___
 inulina, amigdalina, metil xilosido, metil-D-monosido, ado-
 nitol, eritriol, dulcitol y meso inositol.

El crecimiento en el medio de KCM fue positivo ___
 para todas las cepas.

En estudios de biotificación de Aeromonas ais-
 ladas (5), se delinearon en un espectro las especies pro-
 ducidas o enfermedades, en el cuál de un grupo de 147 Aero-
monas aisladas, de diversas fuentes, tanto clínicas como ___
 ambientales. Se sometieron al esquema de identificación
 de Popoff y Véron y de los 147 biotipos aislados, 137 (93%)
 fueron identificados, predominando Aeromonas hydrophila en
 en un 48% y de 25% y 27% para las otras dos especies, Aero-
monas sobria y Aeromonas ceryne correspondientemente.

Un número significativo de propiedades bioquími-
 cas fué encontrado asociado con una o más de estas espe-
 cies.

Estas propiedades incluyen, actividad de la des-

carboxilación de la L-tirosina, hemólisis de eritrocitos de camero, producción de lecitinasa, actividad lipasa para Staphylococcus, hidrólisis de arbutina y producción de CoI de a partir de carbohidratos.

Por la incorporación de estas propiedades fenotípicas, de estas bacterias aisladas, el 90% de las mismas pudieron ser identificadas.

Una distribución selectiva en diferentes sitios del cuerpo fueron notadas para diversas especies. (5)

Mostramos la tabla con la distribución del origen de Aeromonas en los sitios del cuerpo.

Aislamientos (7)

LUGAR	TOTAL	<u>A. hydrophila</u>	<u>A. ceylan</u>	<u>A. sob in</u>
Tracto				
gastrointes-	52(37)	18(26)	17(47)	17(46)
tinal				
Heridas	23(21)	16(24)	9(25)	4(11)
Sangre	18(13)	8(12)	2(6)	8(22)
Fluidos	12(9)	7(10)	2(6)	3(8)
Tracto res-				
piratorio	11(9)	9(13)	2(6)	0(0)
Tracto geni-				
ourinario	5(4)	3(4)	1(3)	1(3)
Diversos	3(2)	1(1)	1(3)	1(3)
Medio				
ambiente	11(8)	6(9)	2(6)	3(8)

para el estudio de la distribución de todas las cepas de Aeromonas en los diferentes sitios anatómicos.

Son varias las razones que justifican la determinación de las especies de Aeromonas. Como A. sobria y A. hydrophila crecen en por lo menos el 20% de todos los sielos (en los heces) (que se creen con originados de colonización del tracto gastrointestinal), puede ser muy importante determinar las especies en coprocultivos de pacientes donde se aisló Aeromonas, particularmente de inmunocomprometidos o pacientes crónicos, que son más susceptibles a enfermedades invasivas.

Se ha postulado que Aeromonas sobria puede ser la especie más virulenta, en contraste con la frecuencia decreciente con que Aeromonas caviae ha sido asociada con infecciones en la congre, dado que son mucho menos patógenas y también menos invasivas.

Con respecto a biotipos de Aeromonas, correlacionados, con la producción de enterotoxinas, en un estudio de 174 cepas. (*) utilizando las características bioquímicas, determinadas por estudios convencionales, se clasificó acertadamente un 93% de las cepas de acuerdo a la producción de enterotoxina.

La mayoría de las cepas Voges-Proskauer positivas, fueron enterotoxigénicas y no hidrolizaron el arabinósid, pero las cepas Voges-Proskauer positivas que sí lo

hidrolizaron (arabinósido) fueron principalmente no enterotoxigénicos.

Aeromonas caviae, la cual es Voges-Proskauer negativa, no oxida el gluconato ni produce gas a partir del glucógeno, no es enterotoxigénica, aunque un número pequeño de otras Voges-Proskauer negativas, fueron enterotoxigénicas.

Cuando la clasificación fue mejorada, 97% de las cepas pudieron ser identificadas con certeza cuando se empleó el ensayo de hemólisis, ya sea para todas las cepas o bien tan solo a las Voges-Proskauer positivas.

Debido al sistema de clasificación propuesto, no se requiere de pruebas de ensayo "in vivo" en los ratones lactantes o en una ligada de conejo, la identificación de cepas de Aeromonas enterotoxigénicas se pueden aplicar por medio de diagnóstico de laboratorio y esto facilitaría los estudios epidemiológicos de las diarreas agudas.

En un estudio sobre la asociación de Aeromonas sobria en infecciones humanas se encontró que 15 cepas de Aeromonas aisladas en humanos y 9 aisladas de agua contaminada fueron identificadas como Aeromonas hydrophila y Aeromonas sobria, misma a las que se les examinó para citotoxicidad, enterotoxigenicidad, adherencia a las células epiteliales y otros factores asociados con la virulencia. Inclu

yendo proteasas, lipasas, elastasas y hemólisis. (2)

Del mismo estudio, dos grupos de organismos fueron distinguidos, basados en pruebas de diferencia de dosis letal-media para ratones y la citotoxicidad para células adrenales Y₁.

El grupo I y cepas del medio ambiente tuvieron la dosis letal-media menor de 10^7 unidades formadoras de colonias y fueron citotóxicas. Frecuentemente tenían varios factores asociados a la virulencia y se consideró a las reacciones de la descarboxilación de la lisina y Voges-Proskauer como positiva.

En el grupo II, las cepas del medio ambiente como las clínicas tuvieron la dosis letal media mayor o igual a 10^7 unidades formadoras de colonias, no fueron citotóxicas y generalmente dieron negativas las pruebas para la descarboxilación de la lisina y el Voges-Proskauer, o bien ambas.

Aeromonas sobria estuvo más frecuentemente asociada a infecciones humanas. 13 de 15 cepas fueron Aeromonas sobria y 2 fueron Aeromonas hydrophila, por otra parte la mayoría de las cepas ambientales 7 de 9 fueron Aeromonas hydrophila (2).

Los Pili de Aeromonas estuvieron fuertemente asociadas con la habilidad de adherirse a las células bucales de humanos, estas características se asociaron con las cepas del grupo I (2).

En un trabajo realizado sobre la abundancia de Aeromonas hydrophila, fué medida en 147 habitats acuáticos

naturales en 30 estados de la Unión Americana y Puerto Rico (5). Cuentas de células viables, fueron utilizadas para estimar la densidad en varios sitios y se utilizó el método de Rimler Shotts, un medio presuntivo o diferencial para Aeromonas hydrophila.

Temperatura, pH, salinidad, turbidez, fueron medidas simultáneamente con una muestra de agua. La densidad de Aeromonas hydrophila, fué más alta en el medio lotico que en el lentic, los sistemas de agua salada, tuvieron una densidad mayor a los de agua fresca. Sin embargo Aeromonas hydrophila, no pudo ser aislada de agua extremadamente calada, aguas termales, o bien acontaminadas, aún cuando ha sido aislada de medios con frecuente diferencia en los espectros de Salinidad, conductividad, temperatura, pH y turbidez.

De la calidad de los parámetros medidos, sólo la conductividad fue significativo con la densidad de Aeromonas hydrophila.

La distribución cosmopolita de Aeromonas hydrophila es particularmente amplia por su habilidad de vivir bajo variedades de medio ambiente, por lo tanto Aeromonas es considerado un patógeno potencial e importante en la microflora de los sistemas acuáticos.

Se observó en estudios sobre el significado clínico y bioquímico de la producción de citotoxina y enterotoxina por cepas de Aeromonas hydrophila obtenidas de las heces de niños (5) en México y en Texas, 9 de la sangre de 9 niños con sepsis, que fue determinada.

Los resultados fueron correlacionados, con las características clínicas de los niños infectados, así como los datos bioquímicos de las cepas.

Las citotoxinas fueron producidas por 40 de 42 cepas de Aeromonas (95%) aisladas de los heces de niños con diarrea, con los 3 aislamientos de heces de niños sanos y 9 que se aislaron de niños, con sepsis. No hubo diferencia en la cantidad de citotoxinas producidas entre las diversas especies, y las manifestaciones clínicas entre los grupos. Ninguna de las cepas aisladas produjeron toxinas que pudieron ser neutralizadas por elevaciones de cuerpos contra la toxina shiga producida por Shigella dysenteriae.

Las enterotoxinas termolábiles fueron producidas por 26 de 42 aislamientos (62%) mientras solo una de 42 aislamientos (2%), produjeron enterotoxina con actividad similar para matar al ratón. 65% de las citotoxinas producidas por la cepa también produjeron productos similares a la endotoxina termolábil. Todas las cepas produjeron hemolisinas, 65% fueron Voges Proskauer positivo y 47% descarboxilaron la lisina.

La cantidad de citotoxina producida, y las características clínicas de especies de Aeromonas asociadas a gastroenteritis, se debe determinar con la relación entre las pruebas bioquímicas que resulten de las especies de Aeromonas y la producción de toxina.

En estudios sobre la frecuencia de portadores de Aeromonas hydrophila en heces fecales, en un período de cuatro meses y medio, 1004 muestras no seleccionadas de 815 pacientes fueron aisladas y cultivadas para Aeromonas hydrophila. 42 aislamientos (42% de 38 pacientes, fueron positivos en el estudio también se aisló Shigella en 116 ocasiones, Shigella en 7 Campylobacter en 6, y otros patógenos bacterianos en 17 ocasiones.

7 ocasiones tuvieron Aeromonas hydrophila junto con otros patógenos bacterianos. En solo 19 de 38 pacientes (50%) Aeromonas hydrophila estuvo asociada con síntomas gastrointestinales.

Todas las Aeromonas aisladas, fueron resistentes a la ampicilina, mecillinam, cloranfenicol, colistin, y cefotaxidina. (7)

En la evaluación de la enteropatogenicidad de Aeromonas en rango de aislamiento de estos organismos fue comparado entre individuos con y sin diarrea en Tailandia, en 2 grupos de viajeros americanos (n.). Aeromonas sp. se vio asociada a episodios de diarrea del viajero además en casos en los que no presentaron diarrea.

Entre 3 grupos populares de Thai, Aeromonas sp. fue aislada con similar frecuencia de individuos con y sin diarrea.

Las características bioquímicas: producción de citoxina y la habilidad a dilatar el intestino de ratones lactantes fue similar entre los aislamientos de Aeromonas de individuos con y sin diarrea.

La citotoxicidad de los cepas de Aeromonas que habitan los intestinos de los conejos y de los ratones lactantes, producen lesiones destructivas en la mucosa intestinal de ambas especies de animales.

Se han administrado oralmente Aeromonas de algunos cultivos con citotoxicidad provocada por las sales de Aeromonas y no han causado diarrea en mono.

Estudios de voluntarios a los que se les practicó biopsia con diarrea intestinal se les pudo establecer una relación entre las especies de Aeromonas como patógenos gastrointestinales en humano. (2)

En trabajos sobre epidemiología de Aeromonas (4) se ha aislado en 0.2 a 3.2% de heces de sujetos sin enfermedad gastrointestinal. Estos microorganismos pueden ser aislados del ambiente, especialmente durante el verano. Un número importante de Aeromonas sp. se ha aislado de aguas contaminadas (ríos), y gran parte de ellas son capaces de producir toxinas, por lo que se considera riesgo para la salud. Además de que Aeromonas pueden utilizarse como indicador de aguas contaminadas.

Aeromonas sp no se ha definido como causante de enfermedades intestinales en huéspedes sanos.

La mayor parte de las evidencias de su papel como patógeno procede de estudios que de muestran que hay un mayor número de aislamientos en heces de enfermos con dia —

rres que en heces de individuos testigos, sin embargo aislar un microorganismo de las heces no prueba su causalidad certa.

Aeromonas hydrophila puede causar enfermedad entérica por medio de la producción de enterotoxinas; pero no existe un acuerdo general en cuanto al método para detectar la toxina, y aunque se han obtenido resultados que manifiestan actividad tóxica, aún hay demasiado escepticismo.

En el caso de Aeromonas sp. se acepta el hecho de que existen 3 tipos de exotoxinas: enterotoxinas, hemolisinas y citotoxinas, 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 yeyuno de rata "in vivo".

Se ha demostrado que existen al menos dos tipos de hemolisinas, pero algunos puntos no son claros acerca de si la toxina es citotóxica o citotónica. La citotoxicidad no coincide con la enterotoxigenicidad, existe mayor relación entre hemolisinas y enterotoxinas.

Se desconoce si hay relación entre enterotoxinas de Aeromonas sp. y las de Vibrio cholerae y Escherichia coli.

Se ha demostrado que la adherencia a células blanco es un mecanismo importante en algunos microorganismos

enteropatógenas; la habilidad de algunas bacterias para adherirse a células epiteliales o causar hemaglutinación se ha utilizado para estudios de los mecanismos de adhesión a células animales; en el caso de Aeromonas se ha demostrado que muchas cepas son hemaglutinadoras de eritrocitos humanos. (2)

Esta capacidad se puede comparar con la de otros géneros bacterianos. Las hemaglutinas se pueden inactivar rápidamente por calor 55°C, lo que indica que son de naturaleza proteínica, posiblemente lectinas.

Existen al menos seis tipos de lectinas diferentes pero no coexisten en la misma cepa. Se ha demostrado que una se encuentra en pilis, y otras aparecen como proteínas de superficie. (2)

Existe controversia acerca de si estos microorganismos deben o no informarse al clínico cuando se aíslan de heces; la mayoría de investigadores está de acuerdo en que cuando se aíslan en grandes cantidades debe informarse pero cuando se encuentra en pequeña proporción es difícil su interpretación.

Es importante establecer si la cepa es o no productora de toxina, los modelos utilizados normalmente son difíciles de aplicar en un laboratorio de rutina; sin embargo, hay trabajos que demuestran que los biotipos de Aeromonas se relacionan con la actividad productora de enterotoxina. (2)

Noventa y tres por ciento de cepas se clasifican como enterotoxigénicas en base a su comportamiento bioquímico de las cuales la mayoría son Voges Proskauer positivas.

En estudios realizados en el Hospital Universitario Dr. Angel Icaño de la Universidad Autónoma de Guadalajara que conjuntamente se llevan a cabo con la Universidad de Texas en Houston sobre la etiología de las diarreas y la respuesta inmunológica, se observó en un lote procesado de 245 especímenes de heces fecales, un total de 13 aislamientos de Aeromonas (5.3%), número que parece ser significativo y lo que nos ha motivado a realizar análisis más detallados. (10)

CAPITULO 3

MATERIAL Y METODOS

Se procesaron 70 cepas procedentes de muestras de heces en las que se aisló Aeromonas; estas muestras correspondieron a pacientes a los que se les practicó un estudio en la clínica de diarreas del laboratorio del Hospital Dr. Angel Leado y que en conjunto con estudios con la Universidad de Texas se buscaban enteropatógenos.

3.1 METODOLOGIA DEL AISLAMIENTO DE AEROMONAS.

Se procedió sembrando las heces en los medios de cultivo selectivos para enteropatógenos: Mac Conkey, XLD, medio Salmonella-Shigella, medio de Skirrow para Campylobacter y agar sangre ampicilina, de las cuales este último es selectivo para aislar Aeromonas.

En la gelosa sangre ampicilina (GSA), las colonias de Aeromonas se caracterizan por ser colonias brillosas, convexas, con color grisáceo o blanquecino, de bordes regulares, enteras. Presentan por lo general hemólisis β y esta es habitualmente grande.

Cuando se tenían estas características coloniales se procedió a una comprobación por medio de la identificación del género.

3.2 PERFIL BIOQUIMICO PARA LA IDENTIFICACION DE ESPECIES DEL GENERO AEROMONAS.

Para diferenciar género y especie de Aeromonas se inocularon una batería de bioquímicos de rutina como son: -- Kliger (notar si hay producción de gas) medio de MIO (motilidad, indol y ornitina) y Lisina, ya que de aquí, las cepas sospechosas de Aeromonas se corroboraron por medio de pruebas

como lo oxidase y la siembra en el medio de DNAsa para su identificación genérica.

Las cepas pertenecientes al género Aeromonas se identificaron en sus especies por las bioquímicas seleccionadas en este estudio.

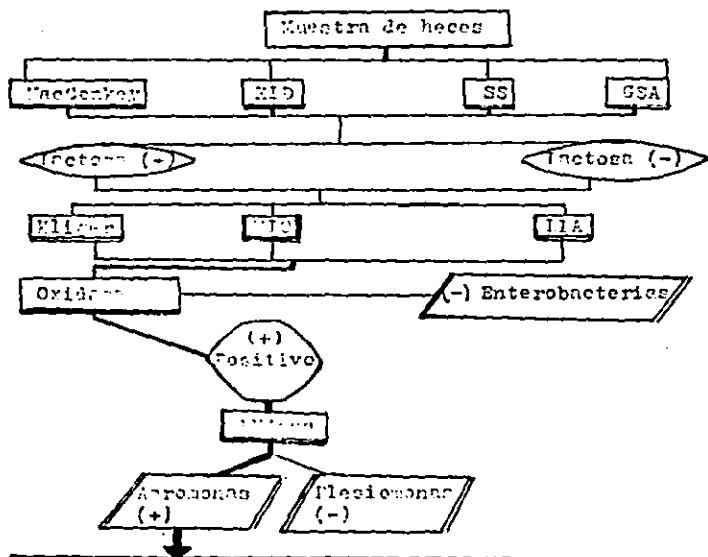
Se evaluaron las pruebas más confiables, de características sencillas de preparar y accesibles en los laboratorios clínico-microbiológicos de rutinas o de investigación.

Se inocularon las cepas de Aeromonas en los medios escogidos y se probaron las diferentes especies comparados -- con el esquema sugerido en el manual Iennet, E; et al (1985).

(13)

Las pruebas bioquímicas seleccionadas que se utilizaron fueron:

- 1.- Medio de Kliger, para observar la formación de gas y/o la fermentación de la lactosa.
- 2.- Medio de bilis-esculina, para observar la hidrólisis de la esculina.
- 3.- Medio de Voges-Froskauer, para observar la producción de acetyl-metil-carbinol.
- 4.- Medio de KCN para observar desarrollo bacteriano.

2.3 ESQUEMA DE IDENTIFICACION PARA ALBOMONAS SF.

TEST	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. caviae</i>	<i>A. sobria</i>
Hidrólisis de esculina	+	+	-
Crecimiento en KCN	+	+	-
Test de Glucosa	+	-	+
Voges Proskauer	+	-	d

(+)
POSITIVA(-)
NEGATIVA(d)
REACCION VARIABLE

3.4 DESCRIPCIÓN DE LAS PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE AEROMONAS .

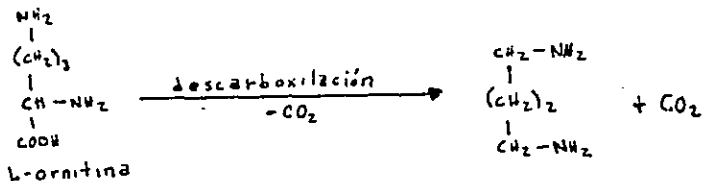
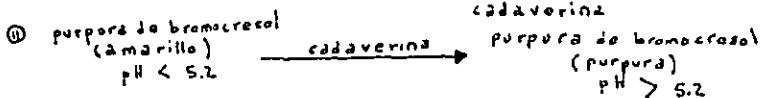
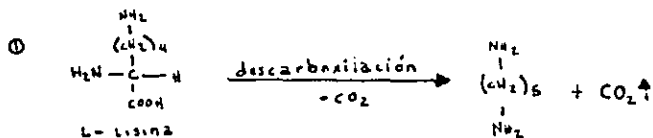
3.4.1. Las descarboxilasas de la LISINA y la ORNITINA.

Las descarboxilasas , son un grupo de enzimas sustrato específicas de aminas de reacción alcalina . Esta reacción, conocida como descarboxilación, produce dióxido de carbono como producto secundario .

Cada una de las descarboxilasas es específica para aminoácidos únicos.

La lisina y la ornitina son los aminoácidos que nos auxiliaron en este estudio en la identificación del género Aeromonas, y las aminas que producen específicamente son:

- 1 Lisina \rightarrow Cadaverina.
- 2 Ornitina \rightarrow Putrescina.



3.4.2. LA MOVILIDAD

La movilidad fue otra de las características esenciales en este estudio ya que las especies de Aeromonas que son posibles patógenas en el hombre tienen esta cualidad y son estudiadas en el medio de MIO (motilidad-indol-ornitina) ya mencionado.

Las bacterias se mueven por flagelos, cuyos número y ubicación varía en las diferentes especies. Se dispone de tinciones flagelares para esta determinación pero no se utilizan comúnmente.

Los medios para detectar movilidad contienen concentraciones de agar de 0.4% o menos.

A mayores concentraciones el gel, demasiado firme como para permitir el libre movimiento de los organismos. A los medios combinados tales como el sulfuro-motilidad, (SIM) o el de motilidad-indol-ornitina (MIO), se les ha encontrado uso amplio en los laboratorios de microbiología clínica, pues se puede medir más de una característica en un mismo tubo. Se debe interpretar primero la prueba de motilidad ya que el agregado del reactivo de Erlich para la detección de indol puede oscurecer los resultados.

3.4.3. ACTIVIDAD DE CITOCROMO OXIDASA

Todo organismo que exhibe actividad de citocromo oxidasa cuando se somete a una prueba para detectar citocromo oxidasa, se excluye de la familia Enterobacteriaceae.

La positividad de la citocromo oxidasa después de sospechar de una serie bioquímica presumible de pertenecer a Aeromonas nos estrechan la posibilidad de perte-

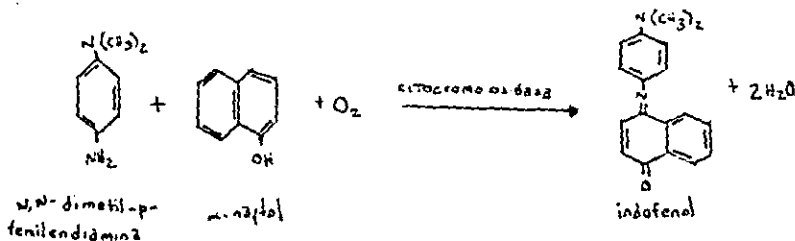
necer a este género bacteriano.

Los citocromos son hemoproteínas que contienen hierro y actúan como el último eslabón de la cadena respiratoria aerobia, transfiriendo electrones (hidrógeno), al oxígeno, con formación de agua. El sistema citocromo se encuentra en los organismos aerobios o anaerobios facultativos, de modo que la prueba de oxidasa es importante para identificar a aquellos organismos que carecen de la enzima o son anaerobios obligados.

La prueba es muy útil para descartar las colonias sospechosas de ser enterobacterias (todas negativas) y por la identificación de colonias que se presume sean especies de Pseudomonas, Pseudomonas, Neisseria y Aeromonas (positivas) entre las más importantes.

PRINCIPIO:

La prueba de citocromo oxidasa utiliza ciertos reactivos colorantes, como el diclorhidrato de p-fenilendiamina, que actúan como aceptores artificiales de electrones, sustituyendo al oxígeno atmosférico se oxida formando azul de indofenol.



3.4.4. DETECCION DE GAS.

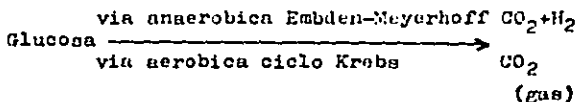
46

Para esta prueba utilizamos el agar hierro de Kliger o el caldo glucosado con campana de Durham invertida.

A fin de medir la capacidad de un organismo para utilizar los hidratos de carbono en forma fermentativa y estudiar los productores de gas, se puede emplear una variedad de medios de desarrollo, ya sea en caldo o en agar.

El principio de fermentación de los hidratos de carbono basado en los estudios sobre levaduras llevados a cabo por Pasteur hace más de 100 años indica la acción de muchas especies de microorganismos sobre un sustrato hidrocarbonado produce la acidificación del medio.

La fermentación de la glucosa sigue la vía anaerobia de Embden-Meyerhoff-Parnas (EMP) que conduce a la formación de ácido pirúvico, del cual derivan una variedad de ácidos orgánicos.



3.4.5. PRUEBA DE BILIS-ESCULINA

47

La prueba de bilis-esculina esta basada en la capacidad de ciertas bacterias, particularmente los estreptococos del grupo D, de hidrolizar esculina en presencia de bilis al 1% a 4%.

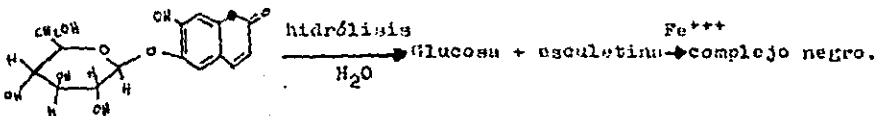
La esculina es químicamente un derivado de la cumarina (6,8- glucósido-7- hidroxycumarina), que por su estructura pertenece a la clase de compuestos conocidos como glucósidos, los glucósidos por definición están constituidos por dos restos unidos mediante un puente oxígeno (unión glucósida) Ambos restos pueden ser monosacáridos como la glucosa o bien, como en el caso de la esculina, uno de los restos puede no ser un hidrato de carbono, denominándose a glucona.

La esculina esta compuesta por glucosa y a glucón a 7-hidroxycumarina, como se observa en la reacción indicada más adelante.

PRINCIPIO:

Las bacterias capaces de desarrollar en bilis y también de hidrolizar esculina producen glucosa y a glucón a esculetina (7,7 dihidroxycumarina) en un medio adecuado.

La esculetina reacciona con una sal de hierro, para formar un complejo marrón oscuro o negro, produciendo un ennegrecimiento difuso del medio bilis esculina, que contiene citrato férrico como fuente de iones férricos



No se conoce la fórmula química exacta del complejo fenólico de hierro formado con la esculetina.

Algunos medios de bilis-esculetina incluyen también azida sódica para inhibir el desarrollo de organismos Gram negativos transformándose en selectivos para estreptococos, tener previo cuidado en el uso de la bilis-esculetina que no contenga, azida sódica para lograr el objetivo en la identificación de las diferentes especies de Aeromonas.

3.4.6. PRUEBA DE VOGES-PROSKAUER.

La reacción de Voges-Proskauer recibe el nombre de dos microbiólogos que trabajaron al comienzo del siglo XX, siendo los primeros en observar la reacción de color rojo producida en medios de cultivo apropiados por tratamiento con hidróxido de potasio activo formado en el medio por metabolismo bacteriano es el acetil-metil-carbinol, un producto de la vía butilenglicol.

PRINCIPIO:

El ácido, componente fundamental formado en la degradación fermentativa de la glucosa, es metabolizado luego a través de varias vías, de acuerdo con los sistemas enzimáticos que poseen las diferentes bacterias. Una de dichas vías lleva la producción de acetofina (acetil-metil-carbinol), un subproducto de reacción neutra.

3.4.7. PRUEBA EN CALDO KCN (cianuro de potasio).

El uso que se le da a la prueba de KCN sirve para la diferenciación del grupo de enterobacterias así, como diferenciar los tipos de especies del género Aeromonas esto en base a su capacidad para desarrollar en presencia de cianuro de potasio (KCN caldo).

CAPITULO 4**RESULTADOS**

Figura 4.1.

ESPECIE AISLADA	Nº	POCENAJE
<i>Aeromonas hydrophila</i>	31	44.3 %
<i>Aeromonas sobria</i>	20	28.5 %
<i>Aeromonas caviae</i>	19	27.1 %
TOTAL	70	100 %

4.1 Número y porcentaje de especies de *Aeromonas* aisladas de muestras de heces fecales.

Figura 4.2.

RESULTADOS

Cepa #	Prod.gee	Escalina	V.P.	HCN	Especie de <i>Aeromonas</i>
1	+	-	d	-	<i>A. sobria</i>
2	+	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>
3	-	+	-	+	<i>A. caviae</i>
4	-	+	-	+	<i>A. caviae</i>
5	+	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>
6	+	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>
7	+	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>
8	+	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>
9	+	-	d	-	<i>A. sobria</i>
10	+	-	d	-	<i>A. sobria</i>
11	+	-	d	-	<i>A. sobria</i>
12	-	+	-	+	<i>A. caviae</i>
13	+	-	d	-	<i>A. sobria</i>
14	+	-	d	-	<i>A. sobria</i>
15	+	-	d	-	<i>A. sobria</i>
16	-	+	-	+	<i>A. caviae</i>
17	-	+	-	+	<i>A. caviae</i>
18	+	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>
19	-	+	-	+	<i>A. caviae</i>
20	+	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>
21	+	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>
22	+	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>
23	+	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>
24	+	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>
25	+	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>
26	-	+	-	+	<i>A. caviae</i>
27	+	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>
28	+	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>
29	-	+	-	+	<i>A. caviae</i>
30	-	+	-	+	<i>A. caviae</i>
31	+	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>
32	-	+	-	+	<i>A. caviae</i>
33	-	+	-	+	<i>A. caviae</i>
34	+	-	d	-	<i>A. sobria</i>
35	+	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>

4.2 Resultados de las 70 cepas de *Aeromonas* evaluadas por su especiación mediante el perfil bioquímico de pruebas.

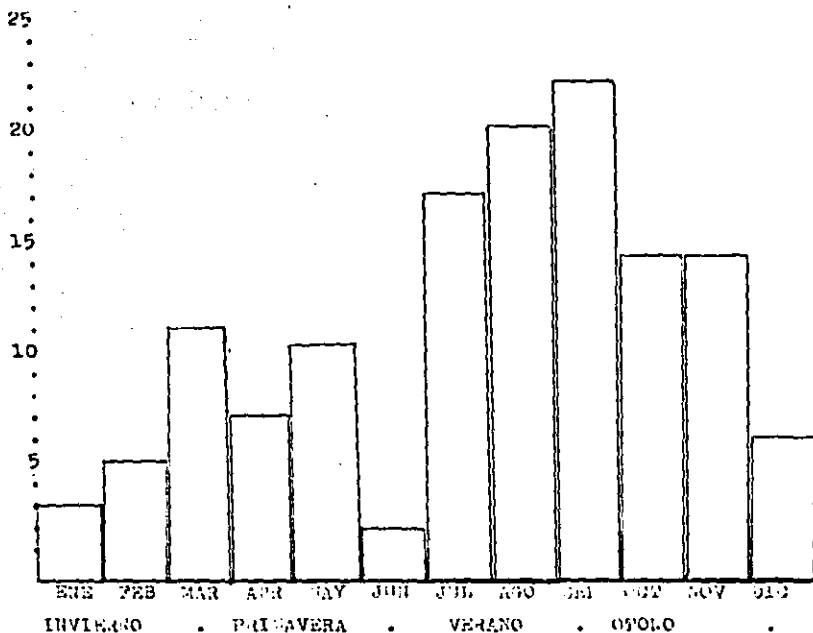
RESULTADOS

Cepa #	Prod.gas	Esculina	V.P.	KCN	Especie de Acromonace
36	+	+	+	+	A. hydrophila
37	+	+	+	+	A. hydrophila
38	+	-	d	-	A. sobria
39	+	-	d	-	A. sobria
40	+	-	d	-	A. sobria
41	+	+	+	+	A. hydrophila
42	+	-	d	-	A. sobria
43	+	-	d	-	A. sobria
44	+	+	+	+	A. hydrophila
45	+	-	d	-	A. sobria
46	-	+	-	+	A. caviae
47	+	+	+	+	A. hydrophila
48	+	-	d	-	A. sobria
49	-	+	-	+	A. caviae
50	+	+	+	+	A. hydrophila
51	-	+	-	+	A. caviae
52	+	+	+	+	A. hydrophila
53	+	-	d	-	A. sobria
54	+	+	+	+	A. hydrophila
55	+	-	d	-	A. sobria
56	+	+	+	+	A. hydrophila
57	+	+	+	+	A. hydrophila
58	-	+	-	+	A. caviae
59	-	+	-	+	A. caviae
60	-	+	-	+	A. caviae
61	-	+	-	+	A. caviae
62	+	-	d	-	A. sobria
63	+	-	d	-	A. sobria
64	+	+	+	+	A. hydrophila
65	+	+	+	+	A. hydrophila
66	+	-	d	-	A. sobria
67	+	+	+	+	A. hydrophila
68	+	+	+	+	A. hydrophila
69	-	+	-	+	A. caviae
70	+	+	+	+	A. hydrophila

(+) Positivo (-) Negativo (d) dudoso o variable.

FIG. 4.3

FRECUENCIA DE AEROMONAS EN LOS DIFERENTES MESES Y
ESTACIONES DEL AÑO.



ENE	3	2.29%
FEB	5	3.62%
MAR	11	8.39%
ABR	7	5.34%
MAY	10	7.63%
JUN	2	1.52%
JUL	17	12.97%
AGO	20	15.24%
SEP	22	16.79%
OCT	14	10.68%
NOV	14	10.68%
DIC	6	4.58%

TOTAL 131 cepas
en 1957.

CAPITULO 5**DISCUSION Y CONCLUSIONES**

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

59

Finalmente y de acuerdo a los resultados de este trabajo, concluimos que la identificación por especie de Aeromonis fué una metodología apropiada, ya que se analizaron un total de 70 cepas de Aeromonis, lográndose diferenciar sus especies, y que de acuerdo a los aislamientos reportados en la literatura universal los porcentajes concuerdan relativamente.

Las pruebas bioquímicas realizadas en este trabajo son las mas confiables, ya que en comparación a los porcentajes y estadísticas en las investigaciones realizadas en diferentes países del mundo, se nota en su positividad porcentual, que son las mas altas y por lo tanto las mas recomendables.

El hecho de que estas pruebas tengan la calidad de ser sencillas y prácticas se recomiendan para el uso a nivel diagnóstico, y afortunadamente se pueden aplicar en cualquier laboratorio clínico o de investigación, por no ser dificultosas, caras o desaprovechables.

Las pruebas que se notaron con un 100 % de efectividad y confiabilidad para diferenciar las especies fueron el uso del medio de esculina y la producción de gas de glucosa.

En la observación de la incidencia de Aeromonas sp. en las estaciones del año en los períodos mensuales, se nota un importante incremento de estas, en la temporada de verano y esto se puede relacionar con la interacción que tiene con el agua.

Pensamos que habrán de efectuarse más estudios - encaminados fundamentalmente a investigar los posibles factores de patogenicidad y su relación con los cuadros clínicos producidos por Aeromonas.

CAPITULO 6

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Burke V. et al.
The microbiology of childhood gastroenteritis:
Aeromonas species and other infective agents
J. Infect. Dis.
Vol. 148; Año 1983, Pag.68-74
- 2.- Daily, O.P. et al.
Association of Aeromonas sobria with human infection.
J. Clin. Microbiol.
Vol. 13; Año 1981, Pag. 769-777
- 3.- Hazen; T.C. et al.
Prevalence and distribution of Aeromonas hydrophila
in the United States.
Appl. Environ. Microbiol.
Vol. 36; Año 1978, Pag. 731-738
- 4.- Janda, J.M. et al.
Aeromonas species in clinical microbiology: Significance,
epidemiology, and speciation.
Ding. Microbiol. Infect. Dis.
Vol. 1; Año 1983, Pag. 221-228
- 5.- Janda J. M. et al
Biotyping of Aeromonas isolates asa correlate to
delineating a species associated disease spectrum.
J. Clin. Microbiol.
Vol. 19; Año 1984, Pag. 44-47

- 6.- Ljungh, A.M. Popoff et al.
Aeromonas hydrophila in acute diarrheal disease:
detection of enterotoxin and biotyping of strains.
J. Clin. Microbiol.
Vol. 6; Año 1977, Pag. 96-100
- 7.- Millership, S.T. et al
Faecal carriage rate of Aeromonas hydrophila.
J. Clin. Pathol.
Vol. 36; Año 1983, Pag. 929-923
- 8.- Burde V. et al.
Biochemical characteristics of enterotoxigenia
Aeromonas spp
J. Clin. Microbiol.
Vol. 15; Año 1982, Pag. 46-52
- 9.- Kindschuh N. et al.
Clinical and Biochemical significance of toxin
Production by Aeromonas hydrophila.
J. Clin. Microbiol.
Vol. 25; Año 1987, Pag. 916-920
- 10.- Hickman-Brenner F.W. et al.
Aeromonas Veronii, a New Ornithine decarboxylase positive
species that may cause diarrhea.
J. Clin. Microbiol.
Vol. 25; Año 1987, Pag. 900-906

11.- González C. y col.

Aeromonas y Fleximonas

Infectología

Vol: 6; Año 1985, Pag. 164-168

64

12.- Piterangri, C.

Enteropathogenicity of Aeromonas hydrophila and Fleximonas shigelloides: prevalence among individuals with, and without diarrhea in Thailand.

Infect. Immun.

Vol. 35; Año 1982, Pag. 666-673

13.- Von Traevenietz, A. et al.

Evaluation of differential and selective media for isolation of Aeromonas and Fleximonas sp from human feces.

J. Clin. Microbiol.

Vol. 17; Año 1983, Pag. 16-21

14.- Rogel A.

Pril Xylose-Ampicillin Agar, a new selective medium for the isolation of Aeromonas hydrophila

J. Med. Microbiol.

Vol. 12; Año 1979, Pag. 229-231

15.- Manual Bioxon

Medios de cultivo y reactivos de Diagnostico.

Año 1985

- 16.- Popoff M. .
 Genus III. Aerobonas. Klyyver y van Niel Bergey's
 manual of systematic bacteriology
 8a. Edición, Año 1984, Pag. 545-548.

- 17.- Lynch.
Métodos de Laboratorio
 Edición 2da. USA
 Editorial Nueva Editorial Interamericana S.A.

- 18.- Lemette R.F.
Manual of Clinical Microbiology
 American Society for Microbiology
 4ta. Edición, País USA, Año 1985, Pag. 276-281

- 19.- Koneman E.W.
Diagnostico Microbiológico, 1ra. Edición
 País Argentina
 Editorial Médica Panamericana S.A.
 Año 1983

- 20.- Comunicación personal Dr. Alejandro H. Cruz
 Sección microbiología
 Laboratorio de patología clínica, Hospital Angel Leño
 Universidad Autónoma de Guadalajara, México.

- 21.- Mac. Paddin
Biochemical test for identification of medical bacteria
 2DA. Edición, País USA,
 Editorial Williams y Wilkins, Año 1980