

11237
55
2oj.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO
"FEDERICO GOMEZ"

Facultad de Medicina.

INVESTIGACION DE AEROMONAS Y
PLESIOMONAS EN NIÑOS CON Y SIN
DIARREA

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE LA ESPECIALIDAD DE
P E D I A T R I A M E D I C A
P R E S E N T A I
ASUNCION ENCARNACION JIMENEZ

Aseores: Dr. Felipe Mota Hernández
Dr. Hugo Mendoza
Lic. Ramona Pimentel

M/14



México, D. F. TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1992



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 está 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.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCION.....	1
VIDRIOS Y AEROMONAS.....	2
GENERO AEROMONAS.....	4
PLESIOMONA SHIGUELOIDE.....	14
OBJETIVOS.....	19
MATERIAL Y METODO.....	20
RESULTADOS.....	23
DISCUSION.....	26
CONCLUSIONES.....	28
TABLAS Y CUADROS.....	29
BIBLIOGRAFIA.....	40

INTRODUCCION

La gastroenteritis aguda y sus complicaciones, aun continua siendo una causa importante de morbimortalidad en nuestros paises de tercer mundo.

En las últimas decadas, la etiologia de la diarrea ha sido ampliamente estudiada, de tal manera que los agentes infecciosos de esta enfermedad han sido bien identificados.

Recientemente, nuevos patogenos como las Aeromonas y Escherichias han sido incriminados como agentes productores de diarrea en los paises del tercer mundo y desarrollados.

En la Republica Dominicana, donde la diarrea y sus complicaciones constituyen la primera causa de mortalidad en la población pediátrica, no ha sido estudiado el papel de estos patogenos en el niño con diarrea, por lo cual planeamos el presente estudio.

VIBRIOS Y AEROMONAS

Miembros de la familia vibrionacea, son importantes patógenos intestinales en todo el mundo. (26) Hasta años recientes, estas bacterias fueron clasificadas como *Vibrio Colera* 01, el agente del cólera; y vibrios no cólera (que no aglutinan con antisuero 01). Recientemente ha sido propuesta una clasificación menos simplista incluyendo diversas especies con distinta ecología, epidemiología, patogenia y manifestaciones clínicas. (19) Tabl Ia

No vibrios, vibriónaceae tales como las *Aeromonas* y *Plesiomonas* pueden ser patógenos intestinales.

Los vibrios, *Aeromonas* y *Plesiomonas* son bacterias móviles, gram negativas, de forma curva, con uno o varios flagelos polares. (10,13,16,18,33)

Las *Aeromonas* y *Plesiomonas*, son autóctonos de aguas saladas y estancadas y pueden obtenerse de aguas de las costas del Golfo de México. (19)

Algunos vibrios u quizá las *Aeromonas* son similares a *Vibrio colera* 01 en su enterotoxigenicidad. (19,18) El principal síntoma de infección es la diarrea acuosa, causada por enterotoxinas bioquímica e inmunológicamente similar a la toxina cólerica.

N

H

A

M

R

F

G

||

GENERO AEROMONAS.

4

DESCRIPCION.

Los miembros del genero aeromonas (13,17,19) son bacilos gram negativos, anaerobios facultativos. Dicho genero, pertenece a la familia vibrionaceae; solo la morfologia flagelar y la prueba de indol-fenol-oxidasa, diferencian a las aeromonas de las enterobacterias.

El genero aeromonas incluye cinco especies: A. Hydrophilla, A. Sobria, A. Caviae, A. Salmonicida, A. media, las dos ultimas hasta el momento no aisladas en el genero humano. La Hydrophilla y la A. Sobria se han asociado a enfermedad en humanos (7,18,24) A. Caviae no se considera patogena para el hombre (4,6,27,33) sin embargo algunos autores (19,36) reportan a la A. Caviae, como la aeromona mas frecuentemente aislada en las evacuaciones diarreicas en norteamerica.

ECOLOGIA Y EPIDEMIOLOGIA

Las aeromonas se encuentran ampliamente distribuidas en aguas dulces, estancadas y cloacales con rango de uno a varios miles por cm cubico (21).

Se les ha reportado de aguas subterranas y clorinadas segun un estudio realizado en el oeste de Australia, asi como en aguas dulces de los Estados Unidos (19). Se les ha aislado de aguas costeras, mariscos, animales de granja y en vegetales en venta (8).

Toleran temperatura entre 4 a 46 grados C.; así como PH de 5.2 a 9.8 y cloruro de sodio de 0.4%.

Enteritis por *Aeromonas*, ha sido descrita en países como: Estados Unidos (4,6,7), Inglaterra (27,30), Thailandia (28), Australia (4), surceste de Asia (9), Canada (14), Mexico (32), India, Indonesia, Nigeria, entre otros. La epidemiología de esta enteritis; se encuentra relacionada con el consumo de agua no tratada en forma adecuada para el consumo.

Toleran temperatura entre 4 a 45 grados C.; así como PH de 5.2 a 9.8 y cloruro de sodio de 0a.2%.

Enteritis por Aerenonas, ha sido descrita en países como: Estados Unidos (4,6,7), Inglaterra (27,30), Thailandia (28), Australia (4), suroeste de Asia (9), Canada (14), Mexico (32), India, Indonesia, Nigeria, entre otros. La epidemiología de esta enteritis; se encuentra relacionada con el consumo de agua no tratada en forma adecuada para el consumo.

MANIFESTACIONES CLINICAS

Se han descrito cuatro categorías de infecciones por Aeromona:

1.- Celulitis e infección de heridas. En relación con la exposición a agua y suciedad; clínicamente manifestada por celulitis y supuración similar a la afección por estreptococo grupo A. (1,13,19,27)

2.- Diarrea: Evacuaciones acuosas, coleriformes, frecuencia de 2 a 20 por día, sin sangre, usualmente no acompañada de fiebre u otro síntomas. La enfermedad es autolimitada con duración de menos de 10 días en el 90%, pudiendo llegar hasta los 14 días. Predomina en menores de 5 años y en pacientes con diarrea del viajero; es más aguda y grave en los niños, en los adultos puede mostrar tendencia a la cronicidad. (6,26,27,34,18)

3.- Infección Oportunista: En hospederos debilitados (enfermedades malignas, leucemias, diabetes, cirrosis, etc) nos pueden dar septicemias, abscesos, colangitis, infección de vías urinarias y problemas pulmonares. (7,18)

4.- Otras Infecciones: Diversas infecciones de tejidos blandos, raros casos de infección de vías urinarias, meningitis, peritonitis y endocarditis.

Tanto animales como humanos pueden ser portadores sanos. Con técnicas selectivas se han detectado de 2 a 3 % en Inglaterra, Estados Unidos y Australia son portadores sanos, en Thailandia se han encontrado hasta en un 8 a 16% de niños y un 27% en adultos, de aquí su importancia epidemiológica.

PATOGENIA

La *Aeromonas Hydrophila* fue descrita por primera vez potencial patógeno enterico en 1937. actualmente despues de 52 años su papel enteropatogeno es aun incierto (1,12,22,31) Chappaur, en 1982 demostro la patogenicidad de la *Aeromonas* mediante la producción de enterotoxinas.(7)

Las *Aeromonas* han sido propuesta como patógeno oportunista, particularmente en aquellos pacientes con enfermedad hepática o neoplásica; se les han asignado un rol enteropatogeno, por mostrar una tasa mayor de aislamiento en cultivo de heces diarreicas que en aquellas normales (1,3), sin embargo otros autores han afirmado que la patogenicidad de la *Aeromonas* se debe a biotipos particulares o a reacciones características en los test bioquímicos como Voges Proskauer, lysina descarboxylasa o l-arabinoside (19), sin embargo, esto no ha sido confirmado por otros autores (17).

Como en el caso de *E. coli*, no todas las copas de *Aeromonas* son patogenas, y aquellas que lo son, pueden producir sus efectos por varias exotoxinas (7,15) este punto ha sido muy discutido y hay debate sobre el número, tipo y patogenicidad de las toxinas identificadas por diferentes investigadores (17,18,19).

Las primeras exotoxinas identificadas de *Aeromonas Salmonicida* y *Aeromonas Hydrophila* fueron las Beta hemolisinas, que pueden ser las responsables de la enfermedad en algunas personas. Se ha mencionado otras como Leucocidinas, proteasas y enterotoxinas.

Algunos preparados de lipopolisacáridos (12) de *Aeromonas Salmonicida* y *Aeromonas Hydrophila*, exhiben propiedades biológicas de endotoxinas, semejantes a otras bacterias gram negativas; estos hallazgos sustentan el posible papel patógeno de los lipopolisacáridos. Fumarola (12) menciona como un probable factor de patogenicidad, la activación de ciertos mecanismos de defensa que podrían ser dañinos al hospedero, en la infección por *Aeromonas*, tal como ocurre en otros enteropatógenos como el *Treponema Hydrodysenteriae*. (38) Kirov y colaboradores (23) sugieren que la presencia de "pili" es un factor de virulencia importante asociado con *Aeromonas*.

Ha sido descubierta una cepa enteroinvasiva de *aeromonas*, pero el esfuerzo en producir diarrea en animales de experimentación ha sido fallido. Chopra y colaboradores (7,31) han demostrado por el método de Elisa la presencia de un factor termolábil (enterotoxina citotóxica) y otro factor termocostable (enterotoxina citotónica) en cultivos de *aeromonas*, sin embargo el papel de estas enterotoxinas en la patogénesis de la enfermedad es aún incierto. Dichas toxinas, han sido consideradas

como causa de acumulación de líquidos en conejos con ligadura experimental de íleo (1.7.14).

Algunos autores comparan la frecuencia de producción de enterotoxinas de *Aeromonas* aisladas de pacientes con y sin diarrea, revelando resultados contradictorios (22).

Numerosos estudios, han sugerido que las enterotoxinas producidas por *Aeromonas* poseen 3 características bioquímicas positivas (6,7): Hemolisinas, Voges Proskauer y actividad lisina descarboxilasa; se ha enfatizado que las *Aeromonas* que poseen estas características corresponden a las especies de *Aeromonas caviae*, que no producen enterotoxina y por lo tanto no es enteropatógena (4,6,27,33).

En resumen la producción de citotoxinas, enterotoxinas, hemolisinas, así como la habilidad para adherirse e invadir células epiteliales, han sido consideradas como los principales factores en la patogenesis de las *Aeromonas*.

MICROBIOLOGIA

Los miembros del genero *Aeromonas* son bacilos gram negativos anaerobios facultativos, miden de 1 a 4.4 micras de longitud y de .4 a 1.0 micras de ancho. Poseen un solo flagelo polar y en ocasiones, puede ser visto un flagelo corto lateral (10,13). Son excepcionales las especies no móviles de *Aeromona Salmonicida*.

Las colonias de *Aeromona Hydrofila*(16) tienen entre dos y cuatro micras de diámetro, son similares en forma y tamaño a las enterobacterias, presentan una amplia zona de beta hemolisis (4) y en el medio de cultivo agar-aeromona, toman una coloración azul intensa en el medio de Muller-Hinton, muestran un pigmento amarillo claro.

CULTIVO AISLAMIENTO E IDENTIFICACION

El aislamiento primario de las Aeromonas y Plesiomonas puede realizarse en los medios de cultivo habitualmente usados para el aislamiento de las enterobacterias como el Agar sangre, Agar enterico diferencial y caldo tripticasa digestivo.

Un estudio compara nueve medios solidos y dos liquidos convenientes para el aislamiento de Aeromonas y Plesiomonas de las evacuaciones humanas; según los resultados los medios con optima sensibilidad y especificidad para los microorganismos son: Peptosa alcalina hidratada, agar inositol bilis verde brillante, agar desoxichocolate citrato xilosa de sodio, agar dextrina fuscina sulfito y ampicilina pril xilosa. (37)

Otros medios recomendados son: agar sangre con 43 gramos por litro de glicerina-alfa-p-nitroforol, agar MacConkey con trehalosa en vez de lactosa, caldo enriquecido, con sales de bilis y novobiocina; estos dos últimos para muestra de agua. (4)

Como medio selectivo para aislamiento de Aeromonas se ha utilizado el "agar Aeromonas", este medio de cultivo tiene como base agar tripticasa soya enriquecido con extracto de levaduras al 1% y como inhibidores se le agrega azul de toluidina al 0.1 por litro de medio de cultivo y 3 x 10 a la 4 ug de ampicilina por litro. (16,18,20)

Las colonias de *Aeromonas hydrophila* miden de 2 a 4 milímetros de diámetro son similares en forma y tamaño a las enterobacterias, presentan una amplia zona de beta-hemólisis y en agar *Aeromonas* toman una coloración azul intensa. En el medio de Muller-Hinton muestra un pigmento amarillizo claro y con frecuencia dan positividad a la prueba de oxidasa antes del minuto.

El rango de temperatura para el crecimiento es de 0 a 41 grados centígrados, para las cepas humanas es de 10 a 41 grados centígrados, usualmente. *Aeromonas salmonicida* crece solamente por debajo de 37 °C. El pH adecuado para el crecimiento de *Aeromonas* es de 5.5 a 9.

Las *Aeromonas* son heterotróficas, producen oxidasa y catalasa, fermentan la glucosa y otros carbohidratos con producción de ácido o gas/ácido, reducen nitratos a nitritos, producen algunas exoenzimas tales como: amilasa, DNAsa, fosfatasa, proteinas, etc.

* Las características bioquímicas de las *aeromonas* y *pleisomonas* se encuentran en la tabla 2.

SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA

La gastroenteritis por *Aeromonas* usualmente no es grave, solamente en casos ocasionales se requiere tratamiento. Son sensibles a una serie de antibióticos que se administran por vía oral. Los antibióticos más efectivos son el cloranfenicol y la nitrofurantoina. (30) El trimetropin-Sulfametoxazol puede ser útil en casos seleccionados de gastroenteritis que ameritan tratamiento.

Las oxitetraciclinas y nitrofurantoinas, son de poca utilidad en pediatría, a pesar de su efectividad para *Aeromonas*.

En infecciones graves, especialmente la septicemia, gentamicina y cefalosporinas de segunda y tercera generación y cloranfenicol, han demostrado tener buenos resultados con mejoría del pronóstico. (19)

PLESIOMONA SHIGUELOIDE

La *P. Shigueloide* es la única especie de su género, descrita por primera vez en 1947, ha sido conocida con diversos nombres: *Aeromonas shigueloide*, *vibrio shigueloide*; el nombre actual de *Plesiomona shigueloide* data de la edición del Manual Bergey de 1984. *Plesiomona* viene del griego "pleistos" que significa vecina (de *Aeromonas*) (31).

HABITAT NATURAL Y EPIDEMIOLOGIA

P. shigueloide es parte de la flora normal de aguas frescas y en menor proporción de ríos y lagos tropicales; ha sido encontrada en aguas dulces y costeras de Norteamérica, particularmente en el golfo de México (19). Se ha considerado como parte de la flora normal del intestino del pescado no así del hombre. Un estudio reciente muestra la adquisición de estos microorganismos fuertemente relacionados con el consumo de mariscos crudos usualmente ostras del golfo de México y con viajes al extranjero (15, 32, 33).

La *Plesiomona shigueloide* no es un comensal de las evacuaciones humanas y algunos estudios usualmente no controlados han recabado este microorganismo en forma significativamente mayor en personas con diarrea

que en aquellas normales. Dos brotes de diarrea han sido reportados en Japón y otro más pequeño en Maryland, ligadas al consumo de ostras crudas en la cual la *Plesiomona Shigueloide* ha sido imputada como probable patógeno. (20,19,30)

MANIFESTACIONES CLINICAS

La *Plesiomona Shigueloide* se encuentra asociada a la producción de diarrea e infecciones profundas, esta última en menor proporción de casos. Las infecciones profundas incluyen: celulitis, bacteremia, osteomielitis y meningitis. (13)

La diarrea se caracteriza por evacuaciones acuosas, verdosas, la mayoría con moco y una tercera parte con sangre en las heces, generalmente ha, cólicos abdominales pudiendo presentar también fiebre. Las evacuaciones casi invariablemente muestran leucocitos y eritrocitos, síntomas que sugieren invasión de la pared intestinal. En ocasiones el examen sigmoidoscópico muestra ocasionalmente lesiones puntiformes en sigmoides y edema de la mucosa. La duración de la diarrea puede ser hasta más de 2 semanas. (15,19,18,30)

PATOGENIA

La enteropatogenicidad de las Plesiomonas se basa en dos hipótesis:

- 1._ Producción de enterotóxina termoestable.
- 2._ Asociación significativa de Plesiomonas en personas con diarrea, en estudios de campo de Mali.

Los estudios para demostrar producción de enterotóxina por un microorganismo incluyen: acumulación de líquidos en conejos con ligadura experimental de íleo, ensayos con células adrenales de rata Y1, ensayos con ratas lactantes y pruebas con genes específicos para toxina colérica y enterotóxina termoestable de E. Coli (6, 19). En forma uniforme, todas estas pruebas han sido negativas en la Plesiomona shigueloide (19). La presencia de moco y sangre en las evacuaciones, leucocitos en los frotis y lesión de la mucosa colónica sugieren enfermedad enteroinvasiva parecida a la producida por Shigella y E coli enteroinvasiva. La falta de respuesta a algunos tests disponibles para enteroinvasividad y enterotoxicidad, tests para los cuales algunas especies de vibrio también dan resultados negativos, podrían indicar que las Plesiomonas producen efecto enterotóxico por algunos mecanismos que no son detectados por estos tests.

El consistente cuadro clínico de personas que han ingerido un

vehículo epidemiológicamente implicado (ostras crudas), el tipo bacteriano de la diarrea producida y la imposibilidad de encontrar otra bacteria en las evacuaciones y la aparente respuesta a los antibióticos a los cuales el organismo es sensible in vitro parecen sugerir a la *Plesiomona* como un patógeno intestinal. (12, 30)

MICROBIOLOGIA

La *P. shigueloide* es un báculo gram negativo, anaerobio facultativo, no esporulado, tiene forma curva y usualmente son móviles. Poseen 1-5 flagelos largos polares con una longitud de onda de 3.5 a 4 micras. En cultivos jóvenes se puede encontrar un flagelo corto lateral y agregado (10, 13).

La *P. shigueloide* forma colonias claras en MacConkoy agar, en triple sugar iron agar produce el mismo patrón de crecimiento que la *Shigella*, las cepas que fermentan lactosa producen colonias claras en este medio. Las colonias casi siempre son incoloras después de 24 hrs de incubación pero se convierten en rosadas o incoloras después de continuar la incubación (10, 13).

CULTIVO, AISLAMIENTO E IDENTIFICACION

Como ya mencionamos, varios medios con óptima sensibilidad y especificidad se recomiendan para el aislamiento de Aeromonas y Plesiomonas de las evacuaciones humanas estos son: Peptona alcalina hidratada y agar sal inositol bilis verde brillante. Otros medios selectivos para Salmonella y Shigella han sido reportados con crecimiento para Plesiomonas, se carece de datos sobre sensibilidad de estos medios (37).

P. shigueloide produce colonias no beta-hemolíticas en agar sangre y generalmente no fermentan lactosa en agares entéricos.

En Triple Sugar Iron Agar y Kligler Iron Agar producen una inclinación alcalina sobre el ácido pero nunca hay formación de gas sulfúrico (H₂S).

Algunas cepas de P. shigueloide tienen un antígeno común con Shigella sonnei, constituyendo éste hecho una frecuente fuente de error de identificación (13).

Un esquema ha puesto en evidencia un total de 30 antígenos O y 11 H; esto fué útil en la identificación de las epidemias de diarrea pero podría no tipificar todas las cepas del medio ambiente.

SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA

La mayoría de las cepas de P. shigueloide son susceptibles a los antibióticos usados para Gram negativos exceptuando la ampicilina y la carbenicilina.

OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es determinar la presencia de aeromonas y plesiomonas en las evacuaciones de niños con y sin diarrea

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL DE ESTUDIO

Se estudiaron las heces fecales de 125 niños menores de un año de edad que asistieron a la consulta externa y sala de urgencias del Hospital de niños Robert Reid Cabral, Santo Domingo República Dominicana durante los meses de agosto a noviembre de 1986. La población se dividió en dos grupos:

- Cien niños con diarrea aguda que no habían recibido tratamiento antimicrobiano previo.
- Veinticinco niños sin diarrea ni otros desórdenes gastrointestinales que constituyeron el grupo control.

A las madres y acompañantes se les cuestionó sobre datos personales y sintomatología acompañante.

El Manejo de la diarrea se dejó a consideración del servicio de hidratación oral y sala de urgencias del mismo hospital.

TOMA DE MUESTRAS

Las muestras se tomaron mediante isopo estéril directamente de la ampolla rectal, siendo colocadas de inmediato en medio de transporte adecuado para enterobacterias Cary Blair, para ser transportadas de inmediato al departamento de microbiología clínica del Laboratorio Nacional de Salud Pública Dr. Defillió a 5 minutos de distancia.

PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

Una vez en el laboratorio, los isopados fueron sembrados de inmediato en los siguientes medios de cultivo:

Agar aeromonas

Agar Hecktoen

Agar Salmonella-Shiguelia

Caldos Gram negativos.

Posteriormente se incubaron a 37° C. por 18 horas.

IDENTIFICACION

Una vez incubadas se examinaron las placas, a las diferentes colonias identificadas se les realizó coloración de Gram y prueba de indo-fenol-oxidasa.

Las colonias oxidasa positiva, con morfología sugestivas de Aeromonas se catalogaron como presuntivas y se les realizó pruebas bioquímicas diferenciales, incluyendose los siguientes estudios:

-Fermentación de carbohidratos (Triple Sugar Iron)

- Voges Proskauer

-Producción de Indol

- Producción de catalasa

- Producción de ornitina

- Movilidad

- Hemólisis

- Fenil alanina
- Producción de ureasa
- Citrato
- Malonato
- Hemólisis de billis esculina

Las colonias identificadas como aeromonas se les clasificó según su especie, de acuerdo a sus características bioquímicas y se les realizó pruebas de sensibilidad.

Para las Plesiomonas shigueloide se siguió el mismo procedimiento, solo que por ser ésta la única especie de su genero, al obtenerse se le consideró como tal.

Como controles se utilizaron cepas de Aeromonas y Plesiomonas obtenidas del "W.H.O. Collaborative Centre for External Quality Assessment in Clinical Microbiology" Universidad de Ziekenhuis, Louven, Bélgica.

* Las características bioquímicas utilizadas para diferenciar las distintas especies de aeromonas, se encuentran en la tabla 3

RESULTADOS -

De los 125 lactantes menores estudiados, en 24 (19.2%) fue posible identificar aeromonas (Cuadro 1).

En el grupo de niños con diarrea, las aeromonas se aislaron en 19/100 (19%). Los niños estudiados como control, presentaron aeromonas en el 5 de 25 casos (20%) (Cuadro 2).

Las especies de aeromonas identificadas corresponden a las siguientes:
A. HYDROPHILA en cuatro pacientes, A. SOBRIA en 15 pacientes y A. CAVIAE en cinco casos (cuadro 3).

La AEROMONAS HYDROPHILA se aisló solamente en niños con diarrea (4%), no se identificaron en el grupo control. No hubo diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos ($p > 0.05$).

AEROMONAS SOBRIA, se aisló en 13 de 100 niños con diarrea (13%) y en dos de 25 (8%) controles sanos. Tampoco hubo diferencia significativa de los cuatro casos de AEROMONAS CAVIAE, dos de 100 (2%) se presentaron en niños con diarrea y tres de 25 (12%) en el grupo control.

Si clasificamos a las aeromonas de acuerdo a su patogenicidad, considerando de acuerdo a lo expuesto previamente como patógenas a la A. HYDROPHILA y a la A. CAVIAE, tenemos los siguientes resultados:

Las aeromonas patógenas se aislaron en mayor proporción en el grupo de niños con diarrea (17%) que en el grupo de niños sanos (8%), la diferencia no fué significativa estadísticamente ($p > 0.05$).

Las aeromonas no patógenas (*A. CAVIAE*) se identificaron en el 2% de los pacientes con diarrea y en tres de 25 pacientes sanos. La diferencia no fué significativa estadísticamente.

Las características clínicas de la diarrea producida por aeromonas concuerda con enfermedad mediada por enterotoxinas, destacando la presencia de evacuaciones aguadas en 16/17 pacientes, frecuentes, sin sangre macroscópica 1/16, con presencia de mucosidad 9/16; generalmente asociada a vómitos 14/16 y en menor proporción a fiebre 9/16. Síntomas como cólicos intestinales se presentaron en una gran proporción 11/16, destacando la presencia de 3/3 niños con *A. HYDROPHILA* en sus evacuaciones y la deshidratación secundaria al cuadro enteral 15/16 (Cuadro 5 y 6).

La *PLESIOMONAS SHIGUELOIDE* se identificó solamente en uno de los 100 pacientes con diarrea (1%), no se presentó en los pacientes sanos (Cuadro 7).

Otros patógenos intestinales fueron también recabados de las evacuaciones, tales como: *Salmonella* en el 5% de niños con diarrea y en dos de 25 (8%) en los sanos; *Shigella* en tres niños con diarrea. No hubo ningún caso de *E. Coli*.

La sensibilidad antimicrobiana fue buena para la Kanamicina 24/24 y gentamicina 19/24. En el caso del cloranfenicol 14/24 fueron sensibles. Solamente tres cepas fueron sensibles a la tetraciclina y penicilina.

La pleiomona Shigueloido fue sensible a la ampicilina, cefalotina, gentamicina y tetraciclina.

DISCUSION.

Además de los agentes clásicos productores del cólera, otros miembros del género vibrio han sido implicados como causantes de diarrea; citamos entre ellos a las Aeromonas y Plasiomonas.

Los reportes de aislamientos de estas bacterias han sido muy variables, así, en 1984, Herrera en Costa Rica informa el aislamiento de AEROMONAS HYDROPHILA en tres de 41 niños con diarrea (16); Ager en Estados Unidos (1), para 1986 en una gran población de 1797 niños, recuperaba aeromonas positivas en cultivo hasta el 1% y en ninguno de 533 controles sanos estudiados. Para el mismo año, Nazer (27) Nazer en Inglaterra encuentra aeromonas en 33 de 799 personas con diarrea (4.1%); Challapalli (6) en 1988 obtiene 39 cultivos positivos para aeromonas en 531 niños estudiados (7.34%) y sólo en 2.15% de 371 del grupo control.

El presente estudio, pone en evidencia la presencia de aeromonas tanto en los niños con diarrea (19%), como en controles sanos (20%); sin embargo, si tomamos en consideración su poder patógeno, encontramos una mayor frecuencia de aeromonas patógenas (A. HYDROPHILA y A. CAVIAE) en los pacientes enfermos que en los pacientes sin diarrea. La falta de significancia estadística probablemente se deba a la pequeña población estudiada como control.

La AEROMONAS HYDROPHILA, el más estudiado y conocido patógeno del género, se identificó sólo en niños con diarrea.

A juzgar por las características clínicas de las evacuaciones, donde predominan las deposiciones aguadas, sin sangre macroscópica, con presencia de vómitos y deshidratación en la mayoría de los casos, podemos presumir como probable mecanismo patogénico el de tipo enterotoxigénico.

La PLESIOMONAS SHIGUELOIDE, fué identificada solamente en un niño con diarrea (1X); el paciente padecía diarrea con características disenteriformes con evolución hacia la cronicidad.

Otros patógenos intestinales clásicamente reconocidos fueron también recibidos de las evacuaciones de nuestros pacientes, tales como Salmonella en el 5% de niños con diarrea y 3% en el grupo control, Shigella en 3% del grupo de niños con diarrea. La ausencia de la presencia de E. coli podría ser debida a que la mayoría de las cepas de este microorganismo no son enteropatógenas y los laboratorios las reportan como negativas.

En un solo caso se asoció la presencia de Aeromonas a otro microorganismo (A. CAVIAE mas Salmonella).

La sensibilidad de nuestras cepas, fué buena para los aminoglucosidos y regular para el cloranfenicol y cefalotina fué pobre para las tetraciclínas.

CONCLUSIONES

A juzgar por nuestros resultados, las Aeromonas podrían ser patógenos vinculados en la etiopatogenia de la diarrea de los niños estudiados, dado que se presentaron con mayor frecuencia en los niños con diarrea (17%) que en los controles sanos (8%); sin embargo, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos, quizás debido al poco número de nuestra serie, siendo necesario estudios posteriores con una mayor población, que nos permita obtener resultados concluyentes.

La *Plesiomona Shigueloide* fue un patógeno poco frecuente (1%) en la diarrea de nuestros niños.

En nuestros casos de diarrea por Aeromonas, las características clínicas sugirieron mecanismo enterotoxigenico.

La sensibilidad antimicrobina fue buena para los aminoglicosidos, en menor proporción para la cefalotina y el cloranfenicol.

**CARACTERISTICAS DE VIBRIONACEAS RECABADAS
DE EVACUACIONES DIARREICAS**

ORGANISMO	ENFERMEDAD PRODUCIDA	FACTORES TOXICOS	VEHICULOS O FACTORES EPIDEMIOLOGICAMENTE IMPLICADOS
Vibrio Cólera serotipo O1	Cólera	Toxina colérica (TC)	mariscos, alimentos agua
Serotipos No O1	Cólera Disenteria	enterotoxina ⁺ TC y no TC	mariscos, agua de mar viajes (México)
Otros vibrios			
V. Mimicus	Diarrea, otitis externa	enterotoxinas ⁺⁺ otras toxinas	mariscos, agua de mar
V. parahemolitico	Diarrea epidémica	hemolisina	mariscos
V. vulnificus	Celulitis, septicemia Diarrea	proteasas elastasas hemolisinas	mariscos, agua de mar
V. fluvialis	Diarrea Disenteria	Enterotoxina ⁺ ?otras toxinas	mariscos
V. furnissii	?Diarrea	?enterotoxina ⁺	mariscos
V. cholerae	Diarrea	?enterotoxina	Desconocidos
No Vibrio Vibrionaceas:			
Aeromonas Hidrófila	Diarrea	enterotoxina ⁺ aerolisina	Agua fresca ? alimentos
Plesiomonas shigelloides	Disenteria	Desconocidos	mariscos, viajes (México)

* Se han visto algunas similitudes entre las enterotoxinas producidas por algunos V. cólera no O1, V. Mimicus, y V. Fluvialis y las enterotoxinas producidas por V. fluvialis y V. furnissii

** Algunas enterotoxinas de estos organismos son aparentemente similares a la toxina colérica

T A B L A II.

CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS DE AEROMONAS Spp. Y PLESIOMONASSHIGUELOIDE.

<u>PRUEBA</u>	<u>AEROMONAS Spp.</u>	<u>P. SHIGUELOIDE.</u>
HeS (Triple sugar iron o Kligler iron agar)	-	-
Ureasa	-	-
Rojo Metilo (37°C)	-	-
INDOL	D*	+
Voges-Proskauer	D	-
Citrato (Simmons)	D	-
Crecimiento en KCN**	D	-
Motilidad	+	D
Gelatina 22°C	:	-
Ornitina Decarboxilasa	-	+
Fenilalanina desaminasa	D	D
Glucosa:		
Acido	+	+
Gas	D	-
Lactosa	D	+
Sucrosa	D	-
Arabinosa	D	-
Manitol	+	-
Nanosa	+	D
Trehalosa	+	+
Esculina	D	-
Amilasa	+	-

* Diferentes reacciones. ** Cianuro Potasico.

T A B L A II (Continuacion).

<u>PRUEBA</u>	<u>AEROMONAS Spp.</u>	<u>P. SHIGUELOJDE</u>
Citrato	D	-
Glicerol	+	D
Nitrato a Nitrito	+	+
Nitrato a Gas	-	-
Oxidasa	+	+
Catalasa	+	+
Crecimiento en:		
Cetrimida	-	-
MacConkey	+	+
Sal-Shigella	D	D
Cloruro de Sodio al 6.5%	-	-

CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS DIFERENCIALES DE LAS ESPECIES
DE AEROMONAS.

<u>PRUEBA</u>	<u>A. HYDROPHILA</u>	<u>A. CAVIAE</u>	<u>A. SOBOTA</u>
Hidrolisis de Esculina.	+	+	-
Crecimiento en KCN*	+	+	-
Acido a partir de salicina	+	+	-
Formacion de gas a partir de glucosa	+	-	D**
Reaccion de Boges Proskauer	+	-	D

* Cianuro de Potasio.

** Diferentes reacciones.

CUADRO NO. 1

INVESTIGACION DE AEROMONAS

CULTIVOS	POSITIVOS	24 (19.2%)
CULTIVOS	NEGATIVOS	101 (80.8%)
CULTIVOS	TOTALES	125 (100%)

CUADRO NO. 2

INVESTIGACION DE AEROMONAS

CULTIVOS POSITIVOS

NIÑOS CON DIARREA	19/100 (19%)
NIÑOS SIN DIARREA	5/25 (20%)

CUADRO NO. 3

INVESTIGACION DE AERONAS

ESPECIES AISLADAS	DIARREA	CONTROLES	TOTALES
A. HYDROPHILA	4/100 (4%)	0	4/125 (3.2%)
A. SOBRIA	13/100 (13%)	2/125 8%	15/125 (12%)
A. CAVIAE	2/100 (2%)	3/125 12%	5/125 (4%)
TOTALES	19/100 (19%)	5/25 (20%)	24/125 (19.2%)

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

CUÁDRO NO. 4

INVESTIGACION DE AEROMONAS

ESPECIES AISLADAS	DIARREA	CONTROLES	TOTAL
PATOGENAS (A. HYDRO PHILA A. SOBRIA).	17/100 (17%)	2/25 (8%)	19/125 (15%)
NO PATOGENAS (A CAVIAE)	2/100 (2%)	3/25 (12%)	5/125 (4%)
TOTALES	19/100 19%	5/25 20%	24/125 19.2%

CUADRO NO. 5

DIARREA POR A. HYDROPHILA

EVACUACIONES AGUADAS	3/3
HOCO	1/3
SANGRE MACROSCOPICA	0/3
VOMITOS	3/3
FIEBRE	2/3
DISTENSION ABDOMINAL	2/3
COLICOS	1/3
TENESMO	3/3
DESHIDRATAACION	3/3
DESNUTRICION	1/3

CUADRO NO. 6

DIARREA POR A. SOBRIA

EVALUACIONES AGUADAS	13/13
MOCO	8/13
SANGRE MACROSCOPICA	1/13
VOMITOS	11/13
FIEBRE	7/13
DISTENSION ABDOMINAL	6/13
COLICOS	10/13
TENESMO	6/13
DESHIDRATACION	12/13
DESNUTRICION	5/13

CUADRO NO. 7

INVESTIGACION DE P. SHIGUELLOIDE

CULTIVOS POSITIVOS 1/100 (1%)

CULTIVOS NEGATIVOS 99/100 (99%)

BIBLIOGRAFIA

40

- 1._ Agger W: Diarrhen associated with *Aeromona Hydrophila*. *Pediatric Infect Dis* 1986;5:693_98.
- 2._ Allen DA,Aulin B, Colwel RR: *Aeromona Media*, a new species isolated from rivers waters. *Int J Syst Bact* 1986;33:599_604.
- 3._ Burke V, Gracey M,Robinson J et al: The microbiology of childhood gastroenteritis: *Aeromonas* species and other infective agents. *J Infecta Dis* 1983; 148: 66_74.
- 4._ Janda JM: Importance of *Aeromona Sobria* in *Aeromonas* Bacteremia. *J Infect Dis* 1988,155: 589_91.
- 5._ Cofey JA,Harris JR,Rutledge MW et al: *Vivrio damsela*: Another potentially virulent marine vibrio. *J infect Dis* 1986;153: 800_01.
- 6.- Challapalli M, Tess B, Cunningham D et al: *Aeromonas* Associated Diarrhea in children. *Pediatr Infect Dis* 1988;7:693_98.
- 7._ Champsaur H, Andreumont A, Mathieu et al: Cholera_ like illness due to *Aeromona Sobria*. *J infec Dis* 1982;145:248_54.
- 8._ Callister SM, Agger WA: Enumeration and Characterization of *Aeromona Hydrophila* and *Aeromona Caviae* isolated from grocery store produce. *Appl environ microb* 1987;53:253.
- 9._ Echavarría P,Blacklow NR,Sanford LB,Cukor GE: Travelers diarrhea among American Peace Corps volunteers in rural Thailand. *J infect Dis* 1981;143:767:71.
- 10._ Ewing WH, Rudolph H: *Aeromonas*. *Manual of Lunette Microbiology*. 230_235.

- 11._ Figura N, Marri L, Verdina S et al: Prevalence species, differentiation and toxigenicity of *Aeromonas strens* in cases of childhood gastroenteritis and control. J Clin Microbiol 1986;23:595-99.
- 12._ Fumarola D, Miragliotta G: More on pathogenic mechanisms of *Aeromonas* related diarrhea. Pediatr Infect Dis 1986;5:607.
- 13._ Graevenitx A: *Aeromonas* and *Plesiomonas*. Microbiology. 278-281.
- 14._ Gurwith M, Bourque C, Cameron E: Cholera like diarrhea in Canada. Arch Intern Med. 1977;137:1461-64.
- 15._ Hall W, Andrews Z: *Aeromonas*-related diarrhea. Arch Intern Med 1986;146:1237.
- 16._ Herrera Ml, Salas JL, Guevara J, Bonilla C: Diarrea por *Aeromona Hydrophila* en Costa Rica. Rev Med Hoap Nal Ninos Costa Rica 1984;19:24-34.
- 17._ Holmberg SD, Scheil WL, Fanning GR et al: *Aeromonas* intestinal infection in the United States. Ann Intern Med 1986;105:683-689.
- 18._ Holmberg SD, Wachauth IK, Hickman Brenner FW et al: *Plesiomonas* enteric infections in the United States. Ann Intern Med 1986;105:690-94.
- 19._ Holmberg SD, Vibrios and *Aeromonas*. Clin Pediatr (Phila) 1988;655-73.
- 20._ Holmberg SD, Farmer JJ: *Aeromona Hydrophila* and *Plesiomona Shiguelloide* as causes of intestinal infections. Rev Infect Dis 1984;6:633-39.
- 21._ Hazee TC, Fliepmans RP, Hirsch RP, And Esch GW: Prevalence and

distribution of *Aeromonas Hydrophila* in the United States. *App Environ Microbiol* 1978;36:731-38.

22. Kimschuhs, Pickering LK, Clearly TG et al: Clinical and biochemical significance of toxin production by *Aeromonas Hydrophila*. *J Clin Microbiol* 1987;25:916-27.

23. Kirov SM, Ross B, Wellock RC, et al: Virulence characteristics of *aeromonas* spp in relation to source and biotype. *J Clin Microbiol* 1986;24:827-34.

24. Millership SE, Curnow SR, Chellapathyay B: Faecal Carriage of *Aeromonas Hydrophila*. *J Clin Pathol* 1983;36:920-23.

25. Mc Neeley D, Ivy P, Craft JC et al: *Plesiomonas*: Biology of the organism and diseases in children. *Pediatr Infect Dis* 1984;3:176-81.

26. Malone F, Coppo A, Pazzani C, et al: Clonal spread of multiply resistant strains of *Vibrio Cholerae* 01 in Somalia. *J Infect Dis* 1986;153:802-03.

27. Nazer H, Price EH, Hunt G, Walker-Smith JA. Clinical Associations of *Aeromonas* spp in fecal specimens from children. *Clin Ped* 1986;25:516-19.

28. Pitagagzsi CP, Echavarrria R, Whitmore C et al: Enteropathogenicity of *Aeromonas Hydrophila* and *Plesiomona Shigelloide*: Prevalence among individuals with and without diarrhea in Thailand. *Infect Immun* 1982;35:666-73.

29. Palomski J, Burke J, Watson I, et al: Purifications of cytotoxic enterotoxins of *Aeromonas sobria* of monoclonal antibodies. *J Med Microbiol*

1976;23:171-77.

30. Rutula WA, Sarubbi FA, Finch CS et al: Oyster associated outbreak of diarrhea disease possibly caused by *Plesiomona Shiguelloides*. Lancet 1982;1:739.

31. Rennels M, Levine MM: Classical bacterial diarrhea: Perspectives and update -Salmonella, Shiguelia, Escheriachia Coli, Aeromonas and Plesiomonas. Ped Infect Dis 1986;5:s91_s100.

32. Steffen R, Malhowson JJ, Ericsson CD et al: Fecal transport systems and liquid Bisauth subsalicylate for self-therapy. J infect Dis 1988;157:1008_13.

33. San Joaquin VII, Pickett A. Aeromonas associated gastroenteritis in children. Pediatric Infect Dis 1988;7:53_57.

34. Taylor DB, Echavarría P, Blaser MN et al: Polymicrobial etiology of travelers diarrhea. Lancet 1985;1:381_83.

35. Treagon L, Pulliam L: Medical microbiology laboratory procedures. 1982. Saunders company.

36. Travis LB, Washington JA II: The clinical significance of stool isolated of Aeromonas. Am J Clin Pathol 1986;85:330_36.

37. Von Graevenitz A and Bucher C: Evaluation of differential and selective media for isolations of Aeromonas and Plesiomonas spp from human feces. J Clin Microbiol 1983;17:16-21.

38. Unosson ME, Joens LA, Glock RD: Involvement of lipopolysaccharide in the pathogenicity of *Treponema Hydodysenteriae*. J Immunol 1983;131:997_99.