

# **ANTICUERPOS EN SUEROS HUMANOS A SUSPENSIONES BACTERIANAS DEL GENERO AEROMONAS**

Por

**RAMIRO MARTÍNEZ SILVA \***

**ANDRÉS SORIANO LLERAS \*\***

En los últimos tiempos, y en número cada vez mayor, se han venido comunicando casos de infecciones producidas por gérmenes del género Aeromonas. Estas infecciones se han presentado de manera aislada (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9), y más recientemente se ha informado sobre un brote de diarrea en un grupo de recién nacidos (10).

La distribución de los microorganismos de este género es muy amplia, siendo conocidos como agentes de enfermedades en animales inferiores (11) y también en medicina veterinaria (12, 13). Su presencia en lugares a los que tiene acceso habitual el hombre, plantea la cuestión de la frecuencia con que estos microorganismos originan infecciones humanas que pasan inadvertidas, o que, desarrollando enfermedades, no sean diagnosticadas.

Para tratar de contestar a esta pregunta hemos realizado el estudio serológico de un grupo de muestras, tomadas al azar, con objeto de demostrar

la presencia de anticuerpos a estos gérmenes.

## **1. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **1.1. Sueros.**

Se han tomado 132 muestras procedentes de individuos sanos y con diferentes afecciones (artritis reumatoide, tuberculosis, cirrosis, etc.), cuyas edades oscilaban entre 13 y sesenta años. Los sueros, una vez separados del coágulo, fueron guardados en el congelador, a una temperatura de 20° C. hasta el momento de practicar la reacción.

### **2.2. Antígenos.**

Para la obtención de antígenos se han utilizado cepas aisladas en nuestro laboratorio, y que, en los estudios iniciales sobre la estructura antigénica de los gérmenes de este género, habían mostrado representar tipos independientes. De estos grupos se tomaron las cepas 461, 1171, 1268, 1314, 1319 y 1466, todas ellas de origen humano,

\* Profesor de la Escuela de Salud Pública, U. N.

\*\* Profesor Asociado de la Facultad de Medicina, U. N.

además de la cepa 1414B que había sido aislada de un armadillo (*Dasyurus novemcinctus*). Para la obtención del antígeno estas cepas fueron sembradas en agar sangre e incubadas a 37° C. durante 16-18 horas. Una de las colonias de aspecto liso se sembró en frascos de Roux, con agar ordinario, y se incubó a 37°-C. durante 16-18 horas. El cultivo se suspendió en solución salina fenicada y se dejó a 37° C. y, una vez estéril, se centrifugó a 3.000 r. p. m. durante una hora. El líquido sobrenadante se decantó, y el sedimento se resuspendió en solución salina fisiológica fenicada al 0.5%, dándole una concentración de  $10^9$  gérmenes por c. c.

Para evitar reacciones falsas, por presencia de suspensiones bacterianas en fase rugosa, se practicó la prueba de la acriflavina, agregando a 0.9 c. c. de la suspensión bacteriana 0.1 c. c. de una dilución de acriflavina al 1/1.000 y dejando actuar dos horas a temperatura ambiente. En caso de aglutinación la suspensión era desechada.

### 1.3. Técnica.

Se practicaron diluciones dobles, progresivas, de los sueros en estudio, en solución salina fisiológica en volúmenes de 0.5 c. c., agregándole cantidades iguales de la suspensión bacteriana. Después de unas 18 horas a 37° C., se realizó la lectura a simple vista, y tan sólo con ayuda del aglutinoscopio en los tubos finales.

## 2. Resultados.

Los datos obtenidos con los 132 sueros frente a cada uno de los antígenos están expresados en el gráfico número 1.

### 2.1. Antígeno procedente de la cepa 461.

De los 132 sueros se mostraron negativos 28 (21.9%). Reaccionaron 27 (20.4%) en dilución al 1/40. Aglutinaron 38 (28.7%), al 1/80; dieron títulos de 1/160, 35 sueros (26.5%). Tan sólo 1 (0.8%), al 1/320. Alcanzaron títulos del 1/640 2 de los sueros (1.6%).

### 2.2. Antígeno procedente de la cepa 1268.

33 de los sueros (25%) fueron negativos. Títulos del 1/40 los dieron 49 sueros (37.1%). En diluciones al 1/80 aglutinaron 35 sueros (26.5%). Al 1/160 reaccionaron 10 sueros (7.3%). Tres sueros (2.4%) aglutinaron al 1/320. Dos sueros (1.6%) presentaron títulos al 1/320. Dos sueros (1.6%) presentaron títulos de 1/640.

### 2.3. Antígeno procedente de la cepa 1466.

De los sueros en estudio, 61 (46%) no alcanzaron a dar títulos del 1/40. Reaccionaron al 1/40, 45 sueros (34%). Al 1/80 aglutinaron 21 sueros (16%). Dieron títulos de 1/160 tan sólo 5 sueros (4%).

### 2.4. Antígeno procedente de la cepa 1314.

Tan sólo 11 sueros (8.3%) reaccionaron en una dilución del 1/40, siendo negativos los demás.

### 2.5. Antígeno procedente de la cepa 1319.

108 sueros (81%) no alcanzaron a dar títulos del 1/40. Al 1/40 aglutinaron 27 sueros (20.4%), al 1/80 35 sueros (26.5%), al 1/160 35 sueros (26.5%), al 1/320 1 suero (0.8%) y al 1/640 2 sueros (1.6%).

naron 22 (16.6%). Unicamente 3 sueros (2.4%) ostentaron títulos de 1/80.

#### 2.6. Antígeno de la cepa 1171.

Todos los sueros fueron negativos.

#### 2.7. Antígeno de la cepa 1414 B.

Todos los sueros fueron negativos.

#### 2.8. Reacciones con la totalidad de los siete antígenos.

En el gráfico número 2 se pueden ver los resultados globales obtenidos con los sueros en presencia de alguno de los siete antígenos. Tan sólo 14 sueros (10.8%) fueron negativos para todos los antígenos. 30 sueros (22.7%) aglutinaron, con alguna de las siete suspensiones, en diluciones al 1/40. 43 sueros (32.5%) reaccionaron en dilución al 1/80. Se obtuvieron títulos de 1/160 en 39 sueros (29.5%). 2 de los sueros (1.6%) dieron un título de 1/320. Y, en diluciones al 1/640, reaccionaron 4 sueros (3.1%).

### 3. Discusión.

Los organismos pertenecientes al género *Aeromonas* tienen una extensa distribución en la Naturaleza, bien sea en los animales o en los lugares a donde éstos tienen acceso.

Además del hombre, se han encontrado en las siguientes especies: caballos, bóvidos, óvidos, perro, nutria (8), cobayo, armadillo, iguana (25), y diferentes especies de peces (8.11). Su distribución geográfica alcanza a climas y latitudes tan diversas como Suecia, Dinamarca, Alemania, Gran Bretaña, Norteamérica (15), Jamaica (1, 2, 3), Corea (7). Nosotros los hemos aislado en 21 casos, a partir de 1.300 coprocultivos humanos (25) y de un

número considerable de aguas de la Sabana de Bogotá.

La infección experimental por medio de estos gérmenes resulta fatal para animales como el ratón, cobayo y conejo, dependiendo su acción de la dosis y vía de inyección. En dosis de 5 por  $10^4$  gérmenes inyectados intramuscularmente en conejos, se observan abscesos que terminan por la curación. La mayoría de las alteraciones producidas en los tejidos del huésped se deben a la liberación de una sustancia que posee algunas de las características de las llamadas exotoxinas. Aunque hasta el momento actual no se han realizado estudios sistemáticos para conocer la acción de los filtrados, se ha visto que es letal para el ratón en dosis de 0.005 c. c. intravenosa; que resulta fatal en dosis de 0.25 c. c. para el conejo, administrado por la misma vía, y mata al perro tras la inyección de 2 c. c. Estos datos no se refieren al filtrado de una única cepa, así que no pueden utilizarse comparativamente, pero sirven para darnos una idea de la marcada toxicidad de los gérmenes en estudio.

La toxicidad "per se" no quiere decir que estos gérmenes originen procesos patológicos en el hombre o en los animales. Para que esto suceda es necesario que haya un contacto que lleve a una invasión y colonización en los tejidos del huésped, a partir de donde se libere la toxina, que, en ausencia de inhibidores, pueda ejercer su acción. Naturalmente, no siempre es necesaria esta secuencia de hechos para que se produzcan las alteraciones que conducen a la enfermedad, y el ejemplo clásico que ilustra esto, lo proporciona la intoxicación por los productos solubles del *Clostridium botulinum*. En el caso de los microorganismos del género *Aeromonas*, no es necesario acudir a este mecanismo, sin excluirlo totalmente, para aclarar las alteraciones responsables de la enfermedad.

Nuestras experiencias muestran que, del grupo de 132 sueros escogidos al azar, tan sólo 10% carecen de anticuerpos y que, aun admitiendo que los títulos de 1/40 y 1/80 carezcan de valor, por representar anticuerpos naturales o inespecíficos, es preciso considerar los títulos de 1/160 y superiores como índices de infección. Aun en estas condiciones, puede deducirse del gráfico número 2, que el 34.2% de todos los sueros en estudio reacciona positivamente, lo que representa una prevalencia de la infección, muy considerable.

Esta cifra tan elevada, y que sin duda aumentaría en el caso de utilizar los antígenos característicos de todos los grupos, indica que la infección en nuestro medio está muy extendida. No resultaría aventurado atribuir a la acción de estos microorganismos una serie de cuadros clínicos, con localización sobre todo de tipo gastrointestinal, que vendría a llenar así el vacío que existe en el conocimiento actual de las causas productoras de diarreas. Esta hipótesis es sobre todo atractiva en lo que se refiere a diarreas infantiles. En efecto, en estudios muy numerosos sobre este aspecto, el porcentaje de agentes aislados clásicamente considerados como responsables de los procesos (*Salmonella*, *Shigella*, *coli* patógenos) en niños, aunque varía para los distintos autores y medios entre el

11.25% y 45.3% (16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24), deja un margen amplio de casos cuya etiología no se aclara. El número de casos con etiología desconocida aumenta a medida que el estudio se realiza en grupos de edad en los que no se incluyen los lactantes, y por lo tanto son menores las posibilidades de aislamiento de cepas patógenas de *E. coli*. Aun sumando agentes patógenos como protozoos, helmintos y el más atractivo y misterioso papel desempeñado por los virus (papel causal, no siempre fácil de demostrar), es necesario admitir que queda una extensa laguna en la etiología de estos procesos. Sin pensar que este vacío pueda llenarse únicamente con la acción de los gérmenes del género *Aeromonas* y sus productos, consideramos que juegan un papel que es necesario tener en cuenta en patología humana.

Esta cuestión no puede resolverse en un estudio que como este es fragmentario y representa una introducción al problema. Es necesario seguir estudios, ampliando la muestra de los sueros y teniendo en cuenta factores epidemiológicos como edad, sexo, distribución geográfica, etc.; se precisa igualmente ahondar en el conocimiento de la estructura antigenica de este grupo de gérmenes, lo que permitiría establecer con más exactitud la incidencia de las infecciones humanas.

#### RESUMEN

1. Se estudian 132 sueros humanos, por medio de la reacción de aglutinación frente a suspensiones de siete cepas del género *Aeromonas*.
2. El número de sueros positivos varía para cada una de las cepas empleadas.
3. El 34.2% de los sueros reaccionan con algunos de los siete antígenos utilizados en diluciones de 1/160 o superiores.
4. Se discute el papel desempeñado por los gérmenes de este género en la etiología de procesos gastro-intestinales.

## SUMMARY

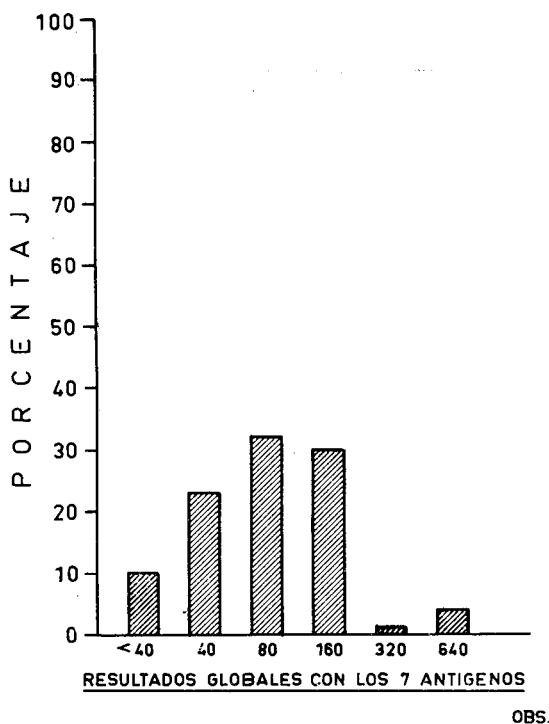
1. One hundred and thirty-two human sera were studied through an agglutination-reaction of suspensions of seven germs of the *Aeromonas* genus.
2. The number of positive serums varied for each one of the germs used.
3. 34.2% of the serums in dilutions of 1/160 or higher reacted to one of the seven antigens used.
4. The role of the germs of this genus are discussed in connection with the etiology of gastrointestinal processes.

Damos las gracias a la señorita Nelly Rodríguez por su asistencia técnica.

## BIBLIOGRAFÍA

1. HILL, K. R.; CASELITZ, F. H., & MOODY, L. M.: "A Case of Acute, Metastatic, Myositis Caused by a New Organism of the Family Pseudomonaceae". W. Indian Med. J., 3: 9, 1954.
2. BRAS, G.; CLEARKIN, K. P.; ANNAMUNTHODO, H., & CASELITZ, F. H.: "Abdominal Actinomycosis Associated with Idiopathic Gangrene of Scrotum". W. Indian Med. J., 3: 137, 1954.
3. CASELITZ, F. H.: "Ein neues Bakterium der Gattung: Vibrio Müller-Vibrio Jamaicensis". Zschr. Tropenmed. Parasit., 6: 51, 1955.
4. KJEMS, E.: "Studies on Five Bacterial Strains of the Genus Pseudomonas". Acta Path. Microbiol. Scand., 36: 531, 1956.
5. CASELITZ, F. H.: "Biologische Studien an Bisher Unbeschriebenen Vibrionenstämmen". Zsch. Tropenmed. Parasit., 7: 341, 1956.
6. CASELITZ, F. H.; HOFMANN, A., & MARTÍNEZ SILVA, R.: "Unbeschriebener Keim der Familie Pseudomonadaceae als Infektionserreger". Zbl. Bakt. I. Orig., 170: 564, 1957.
7. CASELITZ, F. H., & BUCK, A. A.: "Biologische Studien an Mikroorganismen des Genus Aeromonas". Zbl. Bakt. I. Orig., 173: 407, 1958.
8. CASELITZ, F. H., & GÜNTHER, R.: "Weitere Beiträge zum Genus Aeromonas". Zbl. Bakt. I. Orig., 178: 15, 1960.
9. MARTÍNEZ-SILVA, R., & SORIANO-LLEGRAS, A.: "Estudios Experimentales en Seis Cepas de Vibrio Jamaicensis". Rev. Fac. Med., Bogotá, 28: 61, 1960.
10. MARTÍNEZ-SILVA, R.; CASELITZ, F. H., & GUZMÁN-URREGO, M.: "Durchfallausbruch in Neugeborene Hervorgerufen Durch Keime des Genus Aeromonas". (En preparación).
11. SCHÄPERCLAUS, W.: "Beitrag zur Entstehung der Punctata-Formen und zur Theorie der Infektionen Bauchwassersucht der Karpfen". Zbl. Bakt., II. Orig., 105: 49, 1942.
12. THAL, E.: "Eine bisher nicht determinierte Gruppe in der Familie Enterobacteriaceae". Nordisk Veterinaermedicin, 5: 443, 1953.
13. THAL, E., & DINTER, Z.: "Zur Pathogenität der Stammgruppe "455" (Enterobacteriaceae) für die Maus". Nordisk Veterinaer-medicin, 5: 855, 1953.
14. CASELITZ, F. H., & GÜNTHER, R.: "Hämolyinstudien mit Aeromonas stämmen". Zbl. Bakt. I. Orig., 180: 30, 1960.
15. CASELITZ, F. H., & MARTÍNEZ-SILVA, R.: "Hämolytische Studien an Vibrio Jamaicensis und verwandten Mikroorganismen". Zschr. Tropenmed. Parasit., 7: 350, 1956.
16. DE SILVA, C.; RAFFEL, O. C., & SOYSA, P.: "Acta Paediat. (Ups.)". 42: 453, 1953. (Citado en Bol. Of. San. Panamer. Wash., 50: 355, abril, 1961).
17. BRICEÑO-IRAGORRY, L.: "Unid. Sanit.". Caracas, 10: 105, 1955. (Citado en Bol. Of. San. Panamer. Wash., 50: 356, abril, 1961).
18. VALENZUELA, R. H.: "Las Diarreas Agudas en el Niño". Gac. Med. Mex., 86: 443, 1956.

19. COSTA, A., & ARCAYA, O.: "Etiología de las Diarreas Infantiles. XVIII. Escherichia Coli Enteropatógeno en Diarreas Agudas y Toxicosis del Niño Menor". Rev. Chil. Pediatr., 27: 233, 1956.
20. OLARTE, J., & JOACHIN, A.: "Bol. Med. Hosp. Infant.". Mex., 14: 249, 1957. (Citado en Bol. Of. San. Panamer. Wash., 50: 356, abril, 1961).
21. HUET, M.: "Arch. Inst. Pasteur", Tunis, 34: 233 1957. (Citado en Bol. Of. San. Panamer. Wash., 50: 356, abril, 1961).
22. WILSON, A., & LUDER, J.: J. Trop. Pediat., 3: 128, 1957. (Citado en Bol. Of.
- San. Panamer. Wash., 50: 356, abril, 1961).
23. RAMOS-ALVAREZ, M., & SABIN, A. B.: "Enteropathogenic Viruses and Bacteria. Role in Summer Diarrheal Diseases of Infancy and Early Childhood". J. A. M. A., 167: 147, 1958.
24. PAN AMERICAN SANITARY BUREAU: "Summary on Four-Year Reports on Health Conditions in the Americas". Washington, D. C. (Scientific Publication N° 40), 1958.
25. Datos no publicados.



OBS.

