

PREVALÊNCIA DE *AEROMONAS SPP* EM FEZES DIARRÉICAS DE CRIANÇAS MENORES DE 5 ANOS DE IDADE NA CIDADE DE GOIÂNIA, GOIÁS, NO BIÊNIO 1995 - 1996

**Idalina Thiomi Inumaru Nojimoto, Cícera Simone Catão Bezana,
Cíntia do Carmo, Leda Maria Valadão e Kalinka de Melo Carrijo**

Foram analisadas 163 amostras de fezes de crianças com idade abaixo de 5 anos no período de 1995 a 1996, sendo 91 de fezes diarréicas e 72 de fezes não diarréicas. O material foi coletado em meio para transporte e submetido ao processo de enriquecimento a 4°C por 7 dias. Para o isolamento primário foi utilizado ágar amido ampicilina e incubado a 35°C por 18 a 24 horas. Foram isoladas 20 (21,9%) das seguintes espécies: *Aeromonas A. caviae* (7,7%), *A. salmonicida salmonicida* (6,6%), *A. sobria* (4,3%), *A. hydrophila* (2,2%) e *Salmonicida achromogenes* (1,1%). Nenhuma *Aeromonas spp* foi isolada dos 72 pacientes-controles. A susceptibilidade das amostras de *Aeromonas spp* aos antimicrobianos foi maior com a ciprofloxacina, diminuindo gradativamente com cloranfenicol, gentamicina, ampicilina e eritromicina.

Palavras-chaves: *Aeromonas sp.* Patógeno intestinal. Diarréia.

Os membros do gênero *Aeromonas* vêm sendo reconhecidos como importantes patógenos intestinais e extraintestinais de humanos e em variedade de outros vertebrados e invertebrados incluídos peixes, anfíbios e aves⁷.

O gênero *Aeromonas* pertence à família *Vibrionaceae* e é constituído de bacilos gram-negativos móveis (com flagelação predominantemente polar), anaeróbios facultativos, psicofílicos e ubíquos¹³.

Atualmente existem descritas 8 espécies de *Aeromonas* fenotipicamente distintas, a saber: *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*, *A. media*, *A. veronii*, *A. eucrenophila*, *A. schubertii* e *A. salmonicida*; esta última com 4 subespécies: *salmonicida*, *masoucida*; *achromogenes* e *smithia*.

A presença de *Aeromonas spp* como patógeno presente no Brasil está escassamente documentada, entretanto a literatura estrangeira mostra a sua incidência em muitos países, responsabilizando-a por gastroenterites.

A investigação epidemiológica de *Aeromonas spp* associada à diarréia na América do Norte, Europa e Sudeste da Ásia tem demonstrado substancial variação geográfica quanto à frequência do isolamento e a intensidade da doença associada a este microrganismo¹⁷.

A *A. hydrophila* e *A. sobria* foram encontradas mais freqüentemente em pacientes com diarréia na Austrália, Tailândia e Bangladesh, enquanto *A. caviae* tem predominado na Europa e nos EUA^{13 17}.

Os estudos que apontam *Aeromonas spp* como sendo responsáveis por gastroenterites se concentram na suspeita de transmissão através da água^{9 6}. Alternativamente, Buchaman⁴, sugeriu a hipótese de transmissão através de alimentos, predominantemente durante períodos quentes.

O significado clínico de *Aeromonas spp* e seu potencial em causar diarréia tem sido alvo de investigações. Resultados destes estudos sugerem que *Aeromonas spp* causam gastroenterites variando de diarréias agudas em crianças a diarréias crônicas em adultos e que podem persistir por 4 a 6 semanas em pacientes não tratados¹⁵. Em idosos pode-se observar enterocolite, vômito, febre e leucócitos nas fezes¹³.

Têm sido estudados fatores extracelulares como proteases, amilases e elastases e ainda enterotoxinas, citotoxinas e hemolisinas para

Departamento de Microbiologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.

Endereço para correspondência: Prof^a Idalina Thiomi Inumaru Nojimoto. R. Delenda de Rezende s/nº, Setor Universitário, 74065-050 Goiânia, GO.

Recebido para publicação em 12/11/96.

se elucidar o mecanismo pelo qual espécies de *Aeromonas* produzem diarreias^{6,7}. Michael e cols¹⁴ identificaram um grupo de *A. hydrophila* e *A. sobria* que dividiam um fenotipo comum associado a infecções sistêmicas humanas.

Burke e cols⁵ avaliando os microorganismos responsáveis pela diarreia infantil demonstraram que as espécies de *Aeromonas* produtoras de enterotoxinas apresentam biotipos similares. Foram verificados que testes para detecção de hemolisina discriminaram amostras enterotóxicas das não-enterotóxicas com 97% de precisão nestes estudos. Em um estudo da associação de *A. sobria* com infecção humana Daily e cols⁶ demonstraram que as linhagens citotóxicas isoladas apresentavam atividade hemolítica.

Gracey e cols¹⁰ analisando a importância de *Aeromonas* spp como patógeno entérico e avaliando métodos para a sua detecção, sugeriram que estes microrganismos precisam ser avaliados rotineiramente nos laboratórios de diagnóstico e nos estudos epidemiológicos da gastroenterite infantil.

O presente trabalho tem como objetivo fornecer subsídios para o conhecimento da epidemiologia de *Aeromonas* spp em Goiânia, uma vez que não dispomos de dados a respeito deste agente nesta cidade. Assim, propomos: proceder o isolamento de *Aeromonas* spp em amostras fecais diarreicas de crianças menores de 5 anos de idade na cidade de Goiânia; determinar o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos; indicar seu potencial de patogenicidade através da análise da atividade hemolítica.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas em caldo de soja tripticaseína tamponado amostras de fezes de crianças menores de 5 anos de idade sem antibioticoterapia de fezes diarreicas e de não diarreicas. As fezes foram coletadas no ambulatório do Centro Materno Infantil, Laboratório Rômulo Rocha da UFG, Hospital das Clínicas da UFG, e Creche Obra do Berço. As amostras foram analisadas por dois procedimentos: cultivo primário e método de enriquecimento a frio¹⁶.

Métodos bacteriológicos. Cultivo primário: foi feito o plaqueamento direto das fezes no meio ágar amido ampicilina, preparado no nosso laboratório pela adição das seguintes substâncias: vermelho de fenol (0,025g/l), ampicilina (10mg/l);

ágar (12g/l), amido (10g/l) e extrato de carne (5,0g/l). Em seguida foram incubadas a 37°C/24 horas.

Método de enriquecimento a frio: as amostras de fezes foram semeadas no caldo de soja tripticaseína tamponado (Biobrás) e foram incubadas a 4°C por sete dias e plaqueadas em ágar amido ampicilina e reincubadas a 37°C/24 horas.

Isolamento e identificação: as colônias típicas, e aquelas que hidrolisaram o amido, foram semeadas em ágar triplice açúcar ferro (Biobrás) e incubadas a 37°C/24h. Foram feitos os testes de oxidase e catalase e a identificação confirmada pelos seguintes testes bioquímicos: motilidade, indol, H₂S, arginina, esculina, glicose/gás, sacarose, manitol, arabinose¹⁶.

Teste de sensibilidade aos antimicrobianos: as amostras isoladas foram submetidas a teste de sensibilidade aos seguintes antimicrobianos (Biolab): tetraciclina (30µg), ciprofloxacina (5µg), cefalotina (30µg); sulfadiazina-trimetoprim (25µg), ampicilina (10µg), eritromicina (15µg), gentamicina (10µg), cloranfenicol (30µg) e ácido nalidíxico (30µg). Foi utilizado método de difusão em discos, seguindo as normas do National Committee for Clinical Laboratory Standards.

Ensaio de hemolisina: as amostras foram testadas para a atividade hemolítica, em placas de ágar sangue, contendo 5% de sangue de coelho desfibrinado e incubadas a 37°C/24h¹².

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas 163 amostras sendo 91 de fezes diarreicas e 72 de fezes não diarreicas. Nas 91 amostras de fezes diarreicas foram isoladas 20 (21,9%) *Aeromonas* spp, sendo caracterizadas cinco espécies (Tabela 1). Tais dados mostram a associação entre *Aeromonas* sp e diarreia em crianças (Tabela 1). Em 72 amostras de fezes não diarreicas não foi detectada a presença de *Aeromonas*.

Tabela 1 - Frequência de *Aeromonas* spp em 91 amostras de fezes diarreicas de crianças menores de 5 anos de idade em Goiânia.

Espécie	nº	isolamento (%)
<i>A. caviae</i>	7	7,7
<i>A. salmonicida salmonicida</i>	6	6,6
<i>A. sobria</i>	4	4,3
<i>A. hydrophila</i>	2	2,2
<i>A. salmonicida achromogenes</i>	1	1,1
Total	20	21,9

As espécies de *Aeromonas* envolvidas com diarreia infantil foram semelhantes porém a frequência foi maior do que a pesquisada por Moyer¹⁵, que detectou uma incidência de 10,5% e responsabilizou principalmente a *A. sobria* e *A. hydrophila* como causadores de diarreia aguda e a *A. caviae* como causadora de diarreia crônica.

Os resultados obtidos mostram que o isolamento de *Aeromonas* spp, utilizando-se ágar amido ampicilina foi altamente específico. Esses dados são similares aos citados por Alabi e Odugbemi² sobre as características bioquímicas no esquema para identificação de espécies de *Aeromonas* spp. Os nossos estudos também confirmaram o valor da utilização do manitol na diferenciação com a *Pseudomonas shigelloides*.

O teste de sensibilidade aos antimicrobianos revelou que todas as amostras foram sensíveis

à ciprofloxacina a maioria foi resistente à ampicilina e à eritromicina (Tabela 2). O espectro e a diferença de susceptibilidade aos agentes antimicrobianos de espécies de *Aeromonas* foram similares com os relatados por Michael e cols¹⁴ e por Mamizuka e cols¹³.

A atividade hemolítica foi verificada em 65% das amostras revelando-se β-hemolíticas. Nos estudos de Burke e cols⁵ os ensaios para hemolisina discriminaram as amostras enterotóxicas das não-enterotóxicas. Através da análise da atividade hemolítica dentro das espécies foi detectado que todas as *A. hydrophila* e *A. caviae* mostraram-se produtoras de hemolisinas. Algumas cepas contudo não demonstraram atividade hemolítica sugerindo que outros determinantes possam estar envolvidos na regulação de patogenicidade.

Tabela 2 - A susceptibilidade aos agentes antimicrobianos de espécies de *Aeromonas* isoladas de fezes diarréicas de crianças menores de cinco anos de idade na cidade de Goiânia.

Antibióticos	Porcentagem de espécies de <i>Aeromonas</i> sensíveis				
	<i>A. hydrophila</i> (n = 2)	<i>A. sobria</i> (n = 4)	<i>A. caviae</i> (n = 7)	<i>A. salmonicida salmonicida</i> (n = 6)	<i>A. salmonicida achromogenes</i> (n = 1)
Ciprofloxacina	100	100	100	100	100
Cloranfenicol	100	50	85,7	100	100
Gentamicina	50	50	71,4	83,3	100
Ác. nalidíxico	0	100	28,5	83,3	100
Co-trimoxazol	100	50	71,4	0	100
Cefalotina	0	0	57,1	50	100
Tetraciclina	100	0	57,1	16,6	100
Ampicilina	0	0	0	16,6	100
Eritromicina	0	50	0	0	100

SUMMARY

From 1995 through 1996, 163 fecal specimens of children aged under 5 years were analysed, 91 being from diarrhea feces and 72 without diarrhea. The material was collected in transport medium and submitted to the enrichment procedure at 4°C for 7 days. For the primary isolation starch ampicillin agar was used and incubated at 35°C for 18 to 24 hours. Twenty (20.9%) from the following specimens were isolated: *Aeromonas A. caviae* (7.7%), *A. salmonicida salmonicida* (6.6%), *A. sobria*

(4.3%), *A. hydrophila* (2.2%) e *Salmonicida achromogenes* (1.1%). No *Aeromonas* spp was isolated from the 72 control subjects. The *Aeromonas* spp susceptibility to antimicrobial was greater with ciprofloxacin, being this susceptibility gradually diminished with chloranphenicol, gentamicin, ampicillin and erythromycin.

Key-words: *Aeromonas* spp. Intestinal pathogens. Diarrhea.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Agger WA, Mc. Carmick JD, Gurwith MJ. Clinical and microbiological features *Aeromonas hydrophila* associated diarrhea. *Journal of Clinical Microbiology* 21:909-913, 1985.
2. Alabi SA, Odugbemi T. Biochemical characteristics and a simple scheme for the identification of *Aeromonas* species and *Plesiomonas shigelloides*. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 93:166-169, 1990.

Nojimoto III, Bezana CSC, Carmo C, Valadão LM, Carrijo KM. Prevalência de *Aeromonas* spp em fezes diarréicas de crianças menores de 5 anos de idade na cidade de Goiânia, Goiás, no biênio 1995-1996. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 30:385-388, set-out, 1997.

3. Althegg M, Geiss HK. *Aeromonas* as a human pathogen. *Critical Reviews Microbiology* 16:253-286, 1987.
4. Buchaman RL. The "New" pathogens; and update of selected examples. *Association Food Drug Official Chemistry Bulletin* 48:142-155, 1984.
5. Burke V, Gracey J, Robinson D, Peck D, Beaman J, Bundell C. The microbiology of childhood gastroenteritis: *Aeromonas* species and other injective agents. *Journal Infectious Diseases* 148:6874, 1983.
6. Daily OP, Joseph SW, Coobaugh JC, Walker RI, Merrel BR, Rollins DM, Seidler RJ, Colwell RR, Lissner CR. Association of *A. sobria* with human infection. *Journal of Clinical Microbiology* 13:769-777, 1981.
7. Deodhar LP, Saraswathi K, Varudkar A. *Aeromonas* spp and their association with human diarrhea disease. *Journal of Clinical Microbiology* 29:853-856, 1991.
8. Faghi MA, Pennington CI, Cronhalm LS, Atlas RM. Bacteria associated with crabs from cold waters with emphasis on the occurrence of potential pathogens. *Applied Environmental Microbiology* 47:1054-1061, 1984.
9. George WL, Nakata MM, Thompson J, White ML. *Aeromonas*-related diarrhea in adults. *Archives Internal Medicine* 145:2207-2211, 1985.
10. Gracey M, Burk V, Robinson J. *Aeromonas* associated gastroenteritis. *Lancet* 1304-1906, 1982.
11. Hazen TC, Eliermsans CB, Hirsch RP, Esch GW. Prevalence and distribution of *Aeromonas hydrophila* in the United States. *Applied Environmental Microbiology* 36:731-738, 1978.
12. Kipperman H, Ephros M, Lambdim M, White-Rogers K. *Aeromonas hydrophila*: a treatable cause of diarrhea. *Pediatrics*. 73:253-254, 1984.
13. Mamizuka EM, Pavan MFB, Martinez MB. *Aeromonas*: agente etiológico de infecções humanas. *Laes e Haes* p.72-77, 1994.
14. Michael JJ, Guthertz LS, Kokka RPF, Shimada T. *Aeromonas* species in septicemia: laboratory characteristic and clinical observation. *Clinical Infectious Disease* 18:77-83, 1994.
15. Moyer PN. Clinical significance of *Aeromonas* species isolated from patients with diarrhea. *Journal of Clinical Microbiology* 25:2044-2048, 1987.
16. Palumbo SA, Maxino F, Williams AC, Buchanan RL, Thyer DW. Starch-ampicilin ágar for the quantitative detection of *Aeromonas hydrophila*. *American Association For Microbiology* 50:1027-1030, 1985.
17. Pazzaglia G, Sack RB, Salazar E, Chear E, Yi A, Leon-Barua R, Gerrero CE, Palomino J. High frequency of coinfecting enteropatogens in *Aeromonas* associated diarrhea of hospitalized peruvian infants. *Journal of Clinical Microbiology* 29:1151-1156, 1991.