

## Prevalencia de *Plesiomonas shigelloides* en agua de superficie

Pilar Hernández S<sup>1</sup> y Raquel Rodríguez de García

Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela. Apto. 40109. Caracas 1040 A. Venezuela

**RESUMEN:** *Plesiomonas shigelloides* es un bacilo Gram negativo que ha estado implicado en casos de gastroenteritis aguda, meningitis, bacteremia y osteomielitis. Se encuentra normalmente presente en el ambiente, en agua dulces, peces y aves, particularmente en las regiones tropicales y subtropicales. El presente estudio se llevó a cabo con el propósito de establecer el rol de las aguas de superficie como reservorio y vehículo de transmisión del microorganismo y para evaluar el efecto estacional en su incidencia. Muestras de agua de superficie fueron aisladas en la superficie de dos agares selectivos y simultáneamente fueron concentradas mediante la técnica de Seidler, sometidas a enriquecimiento en agua peptonada alcalina y aisladas en la superficie de los agares selectivos. Los aislados fueron caracterizados mediante pruebas bioquímicas. La prevalencia en las muestras analizadas fue de 59% y se observó una mayor frecuencia durante la estación cálida. El uso de ese tipo de agua para el riego de productos vegetales que van a ser consumidos sin cocción ulterior puede representar un riesgo para la salud pública.

**PALABRAS CLAVES:** agua de superficie, *Plesiomonas shigelloides*

### INTRODUCCION

*Plesiomonas shigelloides* es un bacilo Gram negativo, recto, de extremos redondeados, móvil debido a la presencia de flagelos polares, anaerobio facultativo, catalasa y oxidasa positivo que ha estado implicado en gran número de brotes de gastroenteritis particularmente en países tropicales y subtropicales, habiéndose descrito su aislamiento en las heces de pacientes de Mali, Zaire, Kenia, Madagascar, Tahiti, Tailandia e India (1-4). Así mismo, numerosos casos de septicemia, osteomielitis, artritis séptica, meningitis, colecistitis y pseudoapendicitis han estado asociados con el microorganismo (5-7). En los casos de meningitis neonatal, la tasa de mortalidad es de aproximadamente 80% (8). Algunos investigadores describen la producción de una  $\beta$  hemolisina que puede ser uno de los principales factores de virulencia asociados con el microorganismo (9). La bacteria fue descrita por primera vez por Ferguson y Henderson en 1947 (10) quienes la aislaron a partir de las heces de un paciente sano y la denominaron *Paracolon C27*. Posteriormente debido a que presenta un antígeno común al de *Shigella sonnei*, se le denominó *Aeromonas shigelloides* pero debido a las diferencias morfológicas y fisiológicas con los miembros de este género, Cooper y Brown (11) en 1968 la transfieren a un nuevo género, *Plesiomonas*, y denominan la bacteria como *Plesiomonas shigelloides* (*Vibrionaceae*). Sin embargo, su ubicación

**SUMMARY.** Prevalence of *Plesiomonas shigelloides* in surface water.- *Plesiomonas shigelloides* is a Gram negative rod that has been implicated in acute gastroenteritis, meningitis, bacteremia and osteomyelitis. Is normally found in the environment, in fresh water, fish and birds, particularly in tropical and subtropical regions. The present study was pursued with the purpose of establish the role of surface water as reservoir and transmission vehicle and to evaluate the seasonal effect on incidence. Surface water samples were isolated on the surface of two selective agars and simultaneously were concentrated using the Seidler technique, submitted to enrichment procedure in alkaline peptone water and isolated on the surface of the selective agars. Isolates were characterized using biochemical test. The prevalence on analyzed samples was 59% and a higher frequency was observed during the warmer season. The use of this water to irrigate vegetable products that are to be consumed without ulterior cooking may represent a risk to the public health.

**KEY WORDS:** Surface water, *Plesiomonas shigelloides*.

taxonómica es todavía objeto de controversia, en 1994 Ruimy y col. (12), después de estudiar las secuencias de pequeñas subunidades de rRNA señalan que la *Plesiomonas* está filogenéticamente relacionada con la familia *Enterobacteriaceae*.

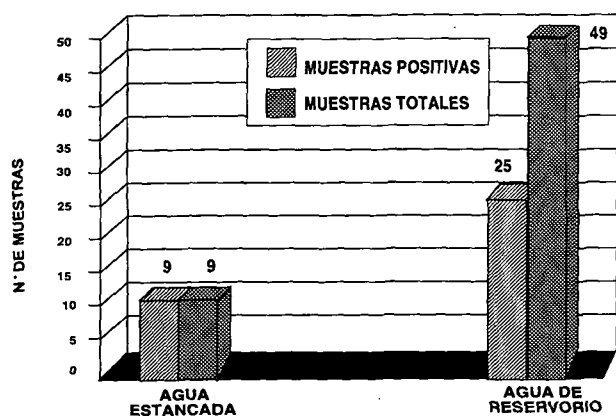
Las cepas son ubicuas, encontrándose normalmente en el ambiente, en aguas dulces, peces y aves (1). En dos brotes de diarrea que afectaron a numerosas personas, *Plesiomonas shigelloides* fue aislada tanto del reservorio de agua potable como de las heces de los pacientes afectados (13). La bacteria se ha encontrado con frecuencia en las aguas dulces de superficie y ha sido responsable de otro brote en el cual el agua estuvo involucrada. (14).

Numerosos estudios han demostrado un efecto estacional en la frecuencia de aislamiento del microorganismo en las muestras ambientales, así como un aumento en los casos de diarrea durante los meses más cálidos (1,13).

El presente trabajo se llevó a cabo con el propósito de determinar la incidencia del microorganismo en las aguas de superficie y determinar la influencia del efecto estacional en su prevalencia, puesto que no teníamos información previa sobre estos aspectos en la ciudad de Caracas. Los resultados obtenidos permiten evaluar el potencial riesgo que implicaría para la salud pública la utilización de estas aguas con fines

1. Autor a quien puede dirigirse la correspondencia

FIGURA 1

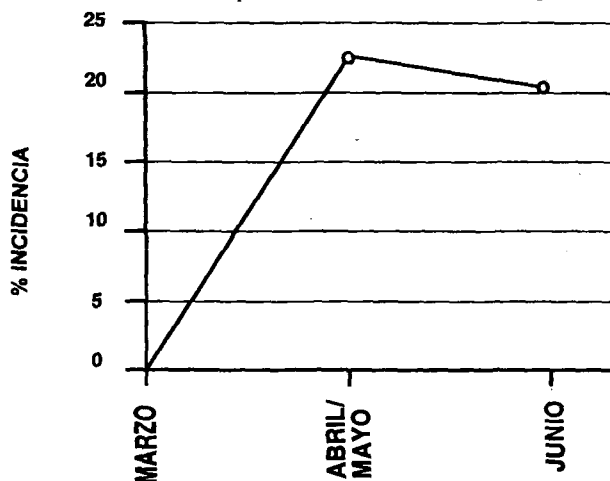
Prevalencia de *Plesiomonas shigelloides* en las muestras analizadas

recreacionales o para el riego de vegetales y hortalizas que son consumidos en forma cruda.

#### MATERIALES Y METODOS

Se analizaron 49 muestras de agua de superficie provenientes de los diferentes reservorios con que cuenta la ciudad y que nutren las diferentes estaciones de tratamiento, durante el período de transición de la estación de sequía a la estación de lluvia. Nueve muestras de agua estancada que llegaron al laboratorio durante este período fueron también analizadas. Las muestras fueron analizadas el día de la toma y para ello se siguieron las recomendaciones establecidas por el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (15). Utilizando un asa se aisló directamente en la superficie de placas de agar Inositol-verde brillante-sales biliares (IBB) y de agar *Plesiomonas* (PL) (16). Paralelamente, al menos 100mL de muestra fueron filtrados a través de una membrana Millipore de 0.45µm (Millipore Corp, Bedford, MA, USA) (17); la membrana se colocó en agua peptonada alcalina (pH 8,6) 24h a 35°C para efectuar un enriquecimiento (18). Posteriormente se procedió al aislamiento en la superficie de las placas de los agares selectivos mencionados. Las placas fueron incubadas a 35-37°C por 24-48 h. *Plesiomonas shigelloides* forma colonias blanquecinas o rosadas en el agar IBB y colonias rosadas rodeadas de un halo rosado en el PL. Las colonias sospechosas fueron transplantadas a tubos con agar tres azúcares hierro (TSI) y al medio inositol gelatina. En este último, *Plesiomonas* toma el medio amarillo y no hidroliza la gelatina. En el TSI, produce una reacción ácida/alcalina sin gas ni sulfuro de hidrógeno. Estos cultivos que mostraron reacciones típicas, fueron sometidos a la prueba de oxidasa. *Plesiomonas* es oxidasa positiva. Se llevaron a cabo, en forma paralela, controles positivos y negativos. Conforme sugieren Koburger y Wei (20), se utilizaron como cultivos de referencia la cepa de *Plesiomonas shigelloides* ATCC 14029 suministrada por el Dr. Gustavo Barbosa-Cánovas del Food Engineering Program, Washington State University, Pullman, USA y una cepa salvaje suministrada por el Dr. Manuel García, del Animal Research Institute, Food Production and Inspection

FIGURA 2

Efecto estacional en la prevalencia de *Plesiomonas shigelloides*

Branch, Canadá. La prueba de Fischer fue utilizada para establecer si las diferencias atribuidas al efecto estacional eran estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

#### RESULTADOS Y DISCUSION

En la Figura 1 se muestra la prevalencia de *Plesiomonas shigelloides* en las muestras analizadas. En la Figura 2 se aprecia el efecto estacional. En la mayoría de los casos *Plesiomonas shigelloides* pudo ser recuperada sólo después de la fase de enriquecimiento, indicando así que este procedimiento puede ser el más indicado para el aislamiento del microorganismo en muestras ambientales donde puede estar presente en bajas concentraciones y está frecuentemente acompañado por una microflora fisiológicamente similar. No se observaron diferencias en los resultados obtenidos con los dos agares selectivos empleados, siendo similar la frecuencia de aislamiento del microorganismo y apreciándose diferencia sólo en la selectividad, pues en el agar PL se presentaron gran número de colonias con características semejantes a las de *Plesiomonas* que fueron luego identificadas como *Pseudomonas* spp. Sin embargo, *Pseudomonas* spp., aunque frecuentemente presentes en agua, pueden diferenciarse rápidamente de *Plesiomonas* mediante la prueba de TSI, (19).

Numerosos estudios han demostrado la presencia de un efecto estacional en la frecuencia de aislamiento del microorganismo así como un aumento de los casos de diarrea durante los meses más cálidos (13,1). En el presente estudio se observa esta tendencia, habiéndose presentado una mayor incidencia durante Abril/Mayo y Junio, meses en que se presenta las temperaturas más altas en la ciudad. Las diferencias fueron estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ). La incidencia observada en las aguas analizadas demuestra que este sustrato constituye un reservorio importante. Resultados similares han sido apreciados por otros investigadores en diferentes partes del mundo (13,20,21). Las aguas de superficie podrían significar un riesgo para la salud pública cuando son utilizadas con fines recreacionales o para el riego de vegetales y hortalizas que son consumidos en forma cruda.

## RECONOCIMIENTOS

El presente trabajo ha sido financiado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela. Los autores agradecen la colaboración del personal de la Planta de Tratamiento de Agua de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Central de Venezuela por su valiosa ayuda en la captación de las muestras.

## REFERENCIAS

1. Arai, T., N Ikejima, I.Ito, S. Sakai, T. Shimada and R. Sakazaki. A survey of *Plesiomonas shigelloides* from aquatic environments, domestic animals, pets and humans. *J. Hyg. Camb.* 4:203-211,1980.
2. Pitarangsi, C., P. Echeverria, R. Whitmire, C. Tirapat, S. Formal, G.J. Dammin., and M. Tingtalapong. Enteropathogenicity of *Aeromonas hydrophila* and *Plesiomonas shigelloides*: prevalence among individuals with and without diarrhea in Thailand. *Infect. Immun.* 35:666-673,1982.
3. Richard, C.,M. Lhuillier, and B. Laurent. *Plesiomonas shigelloides*: une vibronacée enteropathogene exotique. *Bull. Inst. Pasteur* 76:187-200,1978
4. Vandepite, J.A. Makulu, and F. Gatti. *Plesiomonas shigelloides*: survey and possible association with diarrhoea in Zaire. *Ann. Soc. Belge Med. Trop.* 54:503-513, 1974
5. Dahm, L.J. and A.G. Weinberg. *Plesiomonas (Aeromonas) shigelloides* septicemia and meningitis in a neonate. *Southern Med. J.* 73:393-394, 1980.
6. Gordon, D.L., C.R. Philpot and C Mc Guire. *Plesiomonas shigelloides* septic arthritis complicating rheumatoid arthritis. *Aust. N.Z. J. Med.* 13:275-276, 1983.
7. Humphrey, H., B. Keogh. and C.T. Kiane. Septicemia and pleural effusion due to *Plesiomonas shigelloides*. *Post. Med. J.*62:663-664,1986.
8. Billiet, J. S. Kuypers, S. Van Lierde, and J. Verhaegen. *Pseudomonas shigelloides* meningitis and septicaemia in a neonate: report of a case and review of the literature *J. Infect.* 19:267-271, 1989
9. Janda ans S. Abbot. Expression of Hemolytic Activity by *Plesiomonas shigelloides*. *J. of Clin. Microbiol.* 31:1206-1208,1993.
10. Ferguson, W.W. and N.D. Henderson. Description of strain C27: A motile organism with the major antigen of *Shigella sonnei* phase I.J. *Bacteriol.* 54:179-181,1947.
11. Cooper, R.G. and G.W. Brown *Plesiomonas shigelloides* in South Australia. *J Clin Pathol.* 21:715: 715-718, 1968.
12. Ruimy R., V. Breittmayer, P. Elbaze, B. Lafay, O. Boussemart, M. Gauthier, and R. Christen. Phylogenetic Analysis and Assessment of the Genera *Vibrio*, *Photobacterium*, *Aeromonas*, and *Plesiomonas* deduced from small-subunit rRNA sequences. *Int J. Syst. Bacteriol.* 44:416-426, 1994.
13. Tsukamoto, T., Y. Kinoshita, T. Shimada and R. Sakazaki. Two epidemics of diarrhoeal disease possibly caused by *Plesiomonas shigelloides* *J. Hyg. Camb.* 80:275-280. 1978
14. Bhat, P.S. Shanthakumari and D. Rajan The characterization and sinificance of *Plesiomonas shigelloides* and *Aeromonas hydrophila* isolated from an epidemic of diarrhea. *Ind. J. Med. Res.* 62:1051-100, 1974.
15. American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater. American Public Health Association, Washigton, D.C. 1985.
16. Miller, M.L. and J.A. Koburger *Plesiomonas shigelloides*: an opportunistic food and waterborne pathogen. *J. Food Protect.* 48:449-457, 1985
17. Seidler, R.J., D.A. Allen , H. Lockman, R.R. Colwell, S.W. Joseph and O.P. Daily. Isolation, enumeration, and characterization of *Aeromonas* from polluted waters encountered in diving operations. *Appl Environ. Microbiol.* 39:1010-1018,1980.
18. Von Graevenitz, A. and C. Bucher. Evaluation of differential and selective media for isolation of *Aeromonas* and *Plesiomonas* spp. from human feces. *J. Clin. Microbiol.* 17:16-21,1983.
19. Jeppesen, C. Media for *Aeromonas* spp., *Plesiomonas shigelloides* and *Pseudomonas* spp from food and environment. *Int. J. Food Microbiol.* 26:25-41, 1995.
20. Koburger, J. A and Ch. I Wei. *Plesiomonas shigelloides*. En: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association, Washigton D. C. 1992.
21. Abbey, S. D., N.P. Emerinwe, M. Phill, E. N. Amadi. Ecological survey of *Plesiomonas shigelloides*. *J. Food Protect.* 444-446, 1993.

Recibido: 09-08-1996

Aceptado: 08-10-1996