

María González¹,
María Jose Gude¹,
Cristina Seral^{1,2},
María Pilar Abad¹,
Sonia Algarate¹,
F. Javier Castillo^{1,2}

Comparación de dos métodos para la recuperación de *Aeromonas* spp. de heces a partir de agar CIN (Cefsulodina-Irgasan-Novobiocina)

¹Servicio de Microbiología. Hospital Clínico Universitario "Lozano Blesa", Zaragoza

²Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza

Sr. Director:

Aeromonas spp. es un bacilo gramnegativo aerobio y anaerobio facultativo, que morfológicamente es similar a las enterobacterias. La patología humana asociada a las infecciones por *Aeromonas* spp. es variada, aunque destaca su papel en la producción de gastroenteritis y la infección de heridas¹. Actualmente se reconoce la existencia de 23 especies².

La recuperación de *Aeromonas* spp. a partir de heces puede llevarse a cabo utilizando medios de cultivo selectivos específicamente diseñados para este propósito como es el caso del agar sangre con ampicilina (ASA-10 mg/L de ampicilina), si bien, su inclusión en la sistemática habitual no proporciona un alto rendimiento en el laboratorio, con el consiguiente incremento del coste de los coprocultivos³.

La utilización de caldos de enriquecimiento está sometido a controversia ya que los pacientes con infección intestinal por *Aeromonas* spp. eliminan el agente con las heces en cantidad suficiente para que sea factible su recuperación directa⁴.

Estos microorganismos crecen en medios escasa o moderadamente selectivos como agar MacConkey y agar Hektoen, si bien su morfología coliforme y el carácter lactosa positivo de hasta un 30% de las cepas pueden dificultar su selección y recuperación. Resulta práctico aprovechar la selectividad común que ofrece el medio cefsulodina-irgasan-novobiocina (CIN), utilizado para la recuperación del género *Yersinia*, para incrementar el aislamiento de *Aeromonas* spp.. Conviene tener presente que el medio idóneo debería de contener sólo 4 mg/L de cefsulodina³.

Aeromonas spp. son bacterias citocromo oxidasa positivas a diferencia de otros bacilos gramnegativos, especialmente las enterobacterias, que también pueden llegar a crecer en agar CIN.

Aunque algunas colonias pueden mostrar una morfología sugestiva, la diversidad fenotípica del género *Aeromonas* obliga a una identificación preliminar, que puede hacerse

mediante un cribado con pruebas bioquímicas y/o realizando la prueba de citocromo-oxidasa. Esta última prueba puede dar resultados erróneos si se realiza a partir de medios de cultivo que contengan azúcares o sangre⁵.

El objetivo de este estudio es comparar la sensibilidad de dos protocolos de cribado, utilizados simultáneamente, para la recuperación en heces de *Aeromonas* spp. a partir de las colonias crecidas en agar CIN.

Durante el período de un año (Agosto 2008 a Agosto 2009) se procesaron en nuestro laboratorio un total de 7.596 coprocultivos. En todos ellos se realizó una siembra directa en agar CIN incubándose a 35°C durante 18 horas. Se observó desarrollo de 1.920 colonias manitol positivas crecidas en 1.834 coprocultivos diferentes. Seleccionamos 234 colonias que mostraron una morfología compatible con el aspecto de *Aeromonas* spp. (planas, de borde irregular, con centro rosado y un tono más pálido alrededor), que se sembraron en los medios de Kligler, agar-lisina-hierro y SIM, incubando 18h a 35°C. Cuando la identificación presuntiva fue compatible con *Aeromonas* spp. se realizó la prueba de citocromo oxidasa directamente del medio de Kligler y cuando esta prueba fue positiva procedimos a su identificación definitiva mediante el sistema WIDER®. De forma simultánea, todas las colonias manitol positivas se sembraron en agar Mueller Hinton (4 resiembras por cada placa) y tras incubar 18h a 35°C también se procedió a la realización de la prueba de citocromo oxidasa, identificando de forma definitiva, mediante el sistema WIDER®, las que dieron positiva dicha prueba. Invertimos el mismo tiempo para obtener un resultado con ambos protocolos.

De las 234 colonias fenotípicamente compatibles con *Aeromonas* spp., 63 fueron citocromo-oxidasa positivas, identificando 55 de ellas de forma definitiva como *Aeromonas* spp.

Por el contrario, mediante la resiembra en Mueller Hinton de las 1.920 colonias manitol positivas detectamos 179 cepas citocromo oxidasa positivas, de las que 165 se identificaron de forma definitiva como *Aeromonas* spp. Cabe destacar que entre las 165 cepas se encontrarían también las 55 cepas identificadas por el método anterior. En definitiva, este último

Correspondencia:
F. Javier Castillo García
Servicio de Microbiología.
Hospital Clínico "Lozano Blesa".
San Juan Bosco 15. 50009 Zaragoza. España.
Tel: 0034-976-556400 ext 4319.
e-mail: fcastillo@salud.aragon.es

método incrementó la recuperación del género investigado en un 200%.

Entre los años 2000 y 2007 la media de aislamientos de *Aeromonas* spp. por año en nuestro centro utilizando la identificación preliminar de colonias fue de 46, con un máximo de 83 y un mínimo de 30. Durante el año en que realizamos este estudio, aislamos un total de 165 cepas (142 casos).

Cuando se propone la investigación de *Aeromonas* spp. en heces suele recomendarse añadir un nuevo medio selectivo, lo que supone un incremento de coste de la prueba. En nuestra experiencia la realización de la prueba de citocromo-oxidasa a partir de la resiembra en agar Mueller Hinton de las colonias manitol positivas crecidas en agar CIN, mejora notablemente (200%) la sensibilidad en la recuperación de *Aeromonas* spp. de heces, respecto al cribado bioquímico de colonias sospechosas y realización de citocromo-oxidasa del medio de Kligler, sin retrasar la obtención de resultados.

BIBLIOGRAFÍA

1. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Microbiología Médica. 5th ed. Madrid: Elsevier; 2007.
2. Vila J, Álvarez-Martínez MJ, Buesa J, Castillo J. Diagnóstico microbiológico de las infecciones gastrointestinales. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2009;27:406-11.
3. López Brea M, Sanz JC, Usera MA, Reina J, Cardeñoso L, Vasallo F. Gastroenteritis bacterianas, víricas, parasitarias y toxi-infecciones alimentarias. Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 1994. Disponible en: URL: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/>.
4. Vila J, Álvarez M, Buesa J, Castillo J, Vila J. Diagnóstico microbiológico de las infecciones gastrointestinales. Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2008. Disponible en: URL:<http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/>.
5. Prats G. Microbiología Clínica. Madrid; Médica Panamericana: 2006.