

Aeromonas spp. aus Trinkwasser und Stuhlproben in Südindien: Isolierung, Charakterisierung und Toxinnachweis

F. Mascher, F. F. Reinthaler, W. Sixl, G. Schuhmann, U. Enayat

Einleitung

Obwohl die ersten *Aeromonas*-Stämme bereits vor nahezu 100 Jahren beschrieben wurden (32), ist ihre humanmedizinische Bedeutung erst in den letzten Jahrzehnten erkannt worden. Neben extraintestinalen Erkrankungen (3, 15, 31) haben *Aeromonaden* als Erreger von Durchfallerkrankungen vor allem bei Kindern und Tropenreisenden immer mehr an Bedeutung gewonnen. Von humanmedizinischer Bedeutung sind die Arten *A. hydrophilia*, *A. sobria* und *A. caviae*, welche in der Lage sind, verschiedene Exotoxine (Enterotoxine, Hämolsine und Cytotoxine) zu produzieren (18). In der Umwelt kommen *Aeromonaden* vorwiegend in aquatischen Biotopen vor, wobei laut jüngsten Studien *Aeromonas* spp. mit zunehmender Häufigkeit sowohl aus unbehandeltem als auch aus aufbereitetem Trinkwasser isoliert werden konnte (5, 6, 7, 19, 23, 29). Zur Klärung dieses möglichen epidemiologischen Zusammenhanges zwischen kontaminiertem Trinkwasser und Diarrhöen wurden im Rahmen dieser Studie Trinkwasser und Stuhlproben von Kindern auf *Aeromonas* spp. untersucht.

Methoden

Die Untersuchungen wurden im südlichen Teil der Provinz Idukki im Bundesstaat Kerala in Südindien im November und Dezember 1987 durchgeführt.

Trinkwasseruntersuchungen

Die Probenentnahme erfolgte aus zentralen Versorgungsanlagen (Endstränge) und Einzelversorgungsanlagen (Brunnen und Quellen). Zur Bestimmung der Koloniezahlen (KBE/ml) wurden Eintauchnährmedien (Orion Diagnostica-Hygcult TPC/22° C/ 48 h und E/37° C/48 h) verwendet. Zum Nachweis von Fäkaliendikatoren (*E. coli* und *Coliforme*) und *Aeromonas* spp. wurden je 100 ml Probenvolumen membranfiltriert, auf Endo- bzw. Blutagar +10 mg Ampicillin/l aufgebracht, bei 37° C inkubiert und mittels biochemischer Tests (Api E 20 System) identifiziert.

Stuhluntersuchungen

Isolierung von *Aeromonaden*: Anreicherung in alkalischem Peptonwasser (APW, pH 8,5) bei 37° C/48 h und Ausstreichen auf Schafblutagar + 10 mg/l Ampicillin (37° C/24 h).

Sämtliche Stuhlproben wurden außerdem auf *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter* spp., *Yersinia* spp., *Vibrio cholerae*, ETEC und EPEC untersucht.

Von den aus Wasser- und Stuhlproben isolierten *Aeromonas spp.* erfolgte eine Speciesdifferenzierung, eine Empfindlichkeitstestung gegen Antibiotika und ein Hämolyse nachweis.

Speciesdifferenzierung: nach den Kriterien von POPOFF und VERON (25).

Empfindlichkeitstestung (Antibiogramm): Agardiffusionstest (Iso-Sensitest-Agar Oxoid CM 471) mit nachstehenden Antibiotika: Ampicillin (10 µg), Amoxicillin (20 µg) + Clavulansäure (10 µg), Mezlocillin (30 µg), Azlocillin (30 µg), Ticarcillin (75 µg), Cephalexin (30 µg), Cefamandol (30 µg), Cefoxitin (30 µg), Cefotaxim (30 µg), Moxalactam (30 µg), Cefsulodin (30 µg), Imipenem (10 µg), Gentamicin (10 µg), Tobramycin (10 µg), Amikacin (10 µg), Netilmicin (30 µg), Tetracyclin (30 µg), Sulfamethoxanol (23,75 µg) + Trimethoprim (1,25 µg), Erythromycin (15 µg), Chloramphenicol (30 µg).

Hämolysebestimmungen: mit Kaninchenerthrozyten in Mikrotiterplatten nach der Methode von BURKE et al. (4).

Ergebnisse

Die Bestimmungen der KBE/ml erbrachten Koloniezahlen von $< 10^3$ bis 10^6 für das TPC-Medium und $< 10^3$ bis 10^5 für das E-Medium. Vergleicht man die zentralen Versorgungsanlagen (ZWV) mit den Einzelwasserversorgungsanlagen (EWW), so ergibt sich ein Unterschied in der bakteriologischen Qualität zugunsten der ZWV-Anlagen. 39% (TPC) bzw. 72% (E) der Proben aus den ZWV-Anlagen enthielten $< 10^3$ KBE/ml, während von den EWW-Anlagen nur 21% (TPC) bzw. 49% (E) Koloniezahlen von $< 10^3$ aufwiesen. In den Abbildungen 1 und 2 sind die Ergebnisse der Koloniezahlbestimmungen graphisch dargestellt.

Ähnliche Unterschiede erbrachte auch der Nachweis von *Escherichia coli* mit 11% aus den ZWV-Anlagen und 28% aus den EWW-Anlagen. Diese Unterschiede in der bakteriologischen Qualität (KBE/ml, *Escherichia coli*) konnten in der Nachweisrate von *Aeromonas spp.* nicht beobachtet werden. Aeromonaden konnten aus den ZWV-Anlagen (44%) häufiger isoliert werden als aus den EWW-Anlagen (38%) und waren in beiden Bereichen in einem höheren Prozentsatz anzutreffen als *E. coli* (Abb. 3).

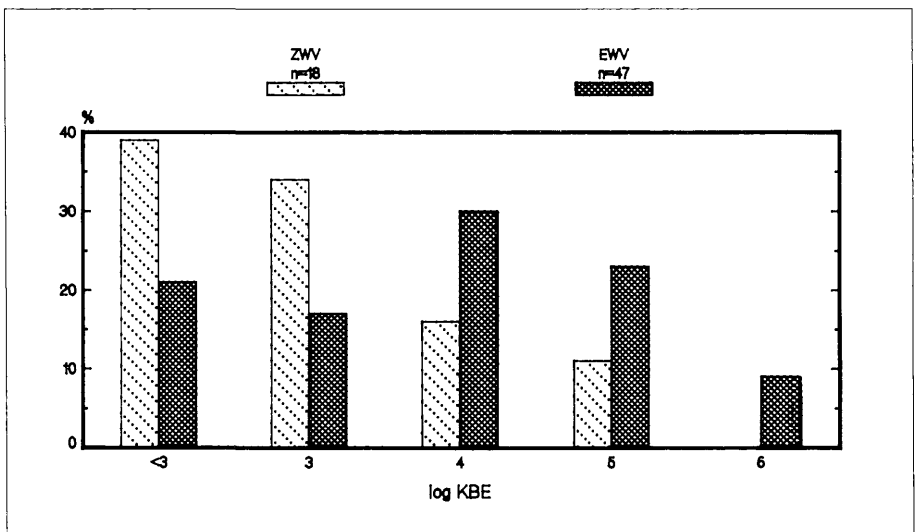


Abb. 1: KBE/ml der ZWV-Anlagen und EWW-Anlagen (TPC-Medium)

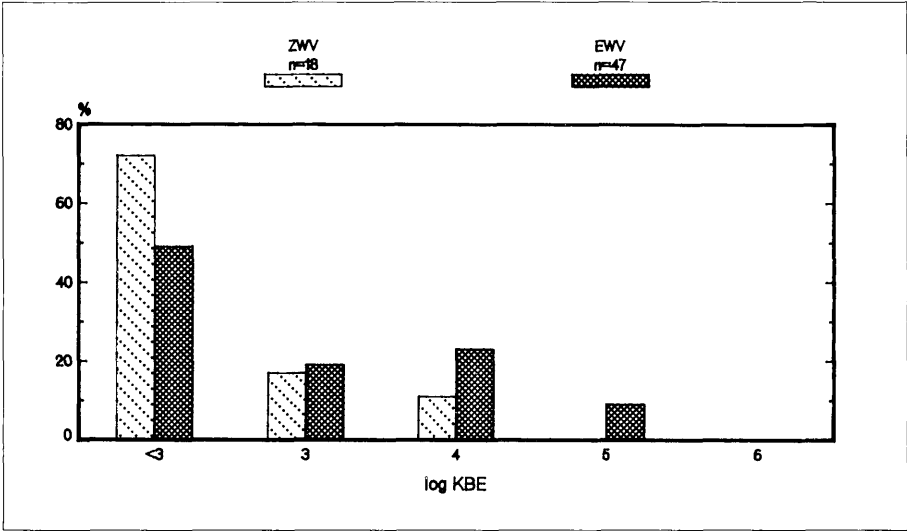


Abb. 2: KBE/ml der ZWV-Anlagen und EWV-Anlagen (E-Medium)

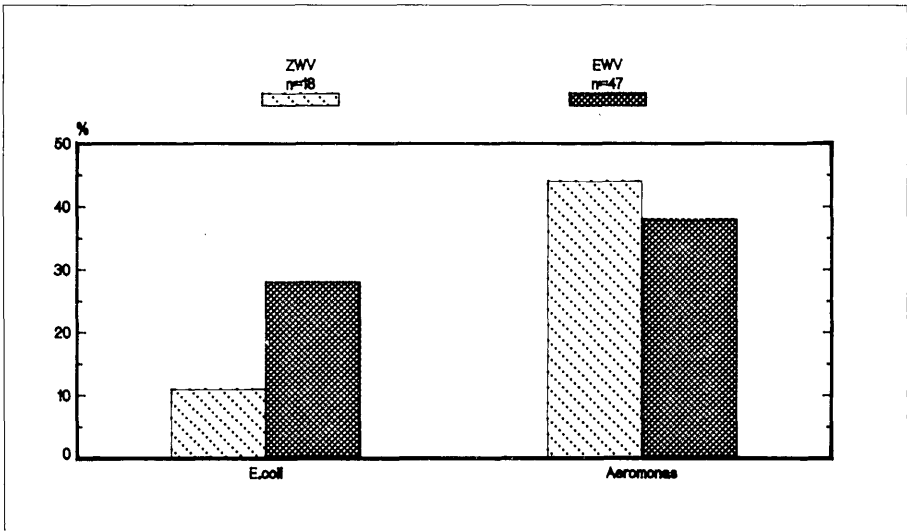


Abb. 3: Nachweisraten von *E. coli* und *Aeromonas spp.* im Trinkwasser

Aeromonas spp. konnte aus 7 von 145 (4,8%) Diarrhoestühlen und aus 1 von 95 (1,1%) Nichtdiarrhoestühlen von Kindern unter 10 Jahren isoliert werden und stellte nach *E. coli* (EPEC, ETEC-LT) den zweithäufigsten bakteriellen Erreger dar. Die Befallshäufigkeit schwankte zwischen 2,0% (Kinder zwischen 2 und 5 Jahren), 4,8% (Kinder zwischen 6 und 10 Jahren) und 7,4% (Kinder unter 2 Jahren). Aus einer Probe wurde *Aeromonas spp.* zusammen mit EPEC nachgewiesen. Aus der Kontrollgruppe konnte nur einmal (1,1%) *Aeromonas spp.* isoliert werden (Tab. 1).

TABELLE 1
Aeromonas spp. aus Stuhlproben
 Anzahl der Proben/davon positiv (%)

Alter (Jahre)	Diarrhoestühle	Kontrollgruppe
< 2	54/4 (7,4%)	27/0
2 - 5	49/1 (2,0%)	45/1 (2,2%)
6 - 10	42/2 (4,8%)	23/0
Total	145/7 (4,8%)	95/1 (1,1%)

TABELLE 2
Artendifferenzierung der aus Wasser- und Stuhlproben isolierten Aeromonaden
 (n = 29)

	A. hydrophila	A. sobria	A. caviae
Wasser	15	6	0
Stuhl	4	4	0

TABELLE 3
Empfindlichkeitstestung der aus Wasser- und Stuhlproben isolierten Aeromonaden
 (n = 29)

	+	+-	-		+	+-	-
Ampicillin	0	0	29	Cefsulodin	29	0	0
Amoxycillin+Cl.	0	0	29	Imipenem	29	0	0
Mezlocillin	2	19	8	Gentamicin	29	0	0
Azlocillin	1	17	11	Tobramycin	25	4	0
Ticarcillin	0	5	24	Amikacin	27	2	0
Cephalexin	2	2	25	Netilmicin	29	0	0
Cefamandol	29	0	0	Tetracyclin	29	0	0
Cefoxitin	27	0	2	Sulfamethoxacol+Tr.	29	0	0
Cefotaxim	29	0	0	Erythromycin	4	24	1
Moxalactam	29	0	0	Chloramphenicol	29	0	0

+ empfindlich · +- schwach empfindlich · - resistent

Die Empfindlichkeitsstudien gegenüber Chemotherapeutika ergaben eine gute Wirkung der betalactamase-stabilen Cephalosporine, Aminoglykoside, Imipenem, Tetracyclin, Sulfomethoxanol + Trimethoprim und Chloramphenicol. Diese Ergebnisse stimmen mit vergleichbaren Untersuchungen überein (9, 13, 14, 22, 26, 27).

BURKE et al. (4) fanden eine signifikante Übereinstimmung zwischen Hämolytintiter und der Bildung von Enterotoxinen und postulierten, daß Stämme mit Titerstufen > 100 als präsumtiv enterotoxinbildend angesehen werden können. Nach diesen Kriterien sind 16 der 21 aus dem Wasser isolierten Stämme und 7 der 8 aus Stuhlproben isolierten Stämme als präsumtiv enterotoxinbildend zu bezeichnen.

Diskussion

Die Nachweisrate von *Aeromonas spp.* aus dem Trinkwasser erbrachte keinen Zusammenhang mit den übrigen mikrobiologischen Parametern (KBE, *E. coli*). Ähnliche Beobachtungen wurden von verschiedenen Autoren (6, 7, 19, 23) bestätigt, die sowohl aus aufbereitetem als auch aus unbehandeltem Trinkwasser Aeromonaden bei Abwesenheit von *E. coli* und niedrigen KBE/ml isoliert haben. Eine Erklärung dafür wäre die lange Überlebensdauer von Aeromonaden (20) in sehr nährstoffarmen Wässern und eine Vermehrung im Leitungssystem (Bildung von Biofilmen an den Rohrwandungen). Diese Annahme wird durch die Beobachtung erhärtet, daß bei der Probenentnahme an Endsträngen bei geringer Durchflußgeschwindigkeit (leicht geöffneter Hahn) weniger Aeromonaden nachgewiesen werden konnten als bei voll geöffnetem Wasserhahn (21).

Die Nachweisrate von 4,8% in Stuhlproben bei Kindern in Südindien liegt in ähnlicher Höhe wie bei vergleichbaren Untersuchungen in Indien und anderen Ländern. Auch die beobachtete Häufung der Isolate bei Kindern unter 2 Jahren wird in anderen Arbeiten bestätigt (1, 8, 10, 11, 13, 16, 17, 22, 24, 26). Unterschiede zu vergleichbaren Untersuchungen ergaben sich in der Artenverteilung. Während weltweit *Aeromonas caviae* meist die vorherrschende Art darstellt (1, 10, 11, 22, 24), wurde bei der vorliegenden Untersuchung *A. caviae* weder im Stuhl noch im Wasser nachgewiesen. Eine jüngst durchgeführte Studie im benachbarten Bangladesh (16) erbrachte ähnliche Ergebnisse.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß Aeromonaden im Untersuchungsgebiet als mögliche Verursacher von Durchfallerkrankungen bei Kindern anzusehen sind. Auch aus anderen Gebieten Indiens liegen Literaturberichte über Aeromonaden als Erreger intestinaler und extraintestinaler Erkrankungen vor (2, 8, 28, 30). Aufgrund der hohen Nachweisrate von *Aeromonas spp.* im Trinkwasser dürfte dieses als direkte oder indirekte Infektionsquelle für die Bevölkerung von Bedeutung sein.

Zusammenfassung

Stuhluntersuchungen in Südindien erbrachten bei 4,8% von Kindern mit Diarrhoe und bei 1,1% von gesunden Kindern den Nachweis von *Aeromonas spp.* Die höchste Befallsrate wiesen Kinder unter zwei Jahren (7,4%) auf.

Bei Trinkwasseruntersuchungen konnte aus 40% der Proben *Aeromonas spp.* isoliert werden. *Aeromonas hydrophila* war die am häufigste identifizierte Species. Aufgrund der Untersuchungsergebnisse ist *Aeromonas spp.* im Untersuchungsgebiet als möglicher Verursacher von Diarrhöen bei Kindern anzusehen, wobei das Trinkwasser als direkte oder indirekte Infektionsquelle von Bedeutung sein kann.

Schlüsselwörter

Aeromonas, Diarrhoe, Trinkwasser.

Summary

Aeromonas spp. from drinking water and stool samples in Southern India: Isolation, characterisation and detection of toxins.

Examinations of stool specimens from Southern India revealed *Aeromonas spp.* in 4,8% of children with diarrhea and 1,1% of healthy children. The highest rate of infection was found in children under 2 years of age (7,4%).

In drinking water analysis, *Aeromonas spp.* were isolated from 40% of the samples. *Aeromonas hydrophila* was the most frequently identified species. Based on the results of the study, *Aeromonas spp.* must be considered a possible cause of diarrhea in children in the area investigated. Drinking water can be a direct or indirect source of infection.

Key words

Aeromonas, diarrhea, drinking water.

Danksagung

Für die organisatorische Unterstützung bedanken sich die Autoren bei Father Methew Arrakal (Peermade Development Society) recht herzlich.

Literatur

1. ALTWEGG, M., JÖHL, M. (1987):
Isolation frequency of *Aeromonas* species in relation to patient age.
J. Clin. Microbiol. 6, 55 - 56.
2. ANNAPURNA, E., SANYAL, S. C. (1977):
Enterotoxigenicity of *Aeromonas hydrophila*.
J. Microbiol. 10, 317 - 323.
3. BAYERDÖRFFER, E. (1987):
Aeromonas hydrophila als Ileokolitis-Erreger.
DMW. 46, 1801 - 1802.
4. BURKE, V., ROBINSON, J., ATKINSON, H. M., GRACEY, M. (1982):
Biochemical characteristics of enterotoxigenic *Aeromonas* spp.
J. Clin. Microbiol. 15, 48 - 52.
5. BURKE, V., ROBINSON, J., COOPER, M., BEAMAN, J., PATRIDGE, K., PETERSON, D., GRACEY, M. (1984):
Biotyping and virulence factors in clinical and environmental isolates of *Aeromonas* species.
Appl. Environ. Microbiol. 47, 1146 - 1249.
6. BURKE, V., ROBINSON, J., GRACEY, M., PETERSON, D., MEYER, N., HALEY, V. (1984):
Isolation of *Aeromonas* spp. from an unchlorinated domestic water supply.
Appl. Environ. Microbiol. 48, 367 - 370.
7. BURKE, V., ROBINSON, J., GRACEY, M., PETERSON, D., PATRIDGE, K. (1984):
Isolation of *Aeromonas* spp. from a metropolitan water supply: Seasonal correlation with clinical isolates.
Appl. Environ. Microbiol. 48, 361 - 366.
8. CHATTERJEE, B. D., NEOGY, K. N. (1972):
Studies on *Aeromonas* and *Plesiomonas* species isolated from cases of choleraic diarrhea.
Ind. J. Med. Res. 60, 250 - 524.
9. FASS, R. J., BARNISHAN, J., HELSEL, V. L. (1986):
Antimicrobial susceptibility of *Aeromonas*/*Plesiomonas*.
First international workshop on *Aeromonas* and *Plesiomonas*. Manchester, England.
10. FIGURA, N., MARRI, L., VERDIANI, S., CECCHERINI, C., BARBERI, A. (1986):
Prevalence, species differentiation, and toxigenicity of *Aeromonas* strains in cases of childhood gastroenteritis and in controls.
J. Clin. Microbiol. 23, 595 - 599.
11. GEISS, H. K., FOGEL, W., SONNTAG, H. G. (1988):
Häufigkeit von *Aeromonas* species im Stuhl von Gesunden und Durchfallkranken.
Immun. Infekt. 16, 115 - 117.
12. GEORGE, W. L. (1984):
Aeromonas associated diarrhea in humans.
Mikroecology and Therapy. 14, 97 - 102.
13. GRACEY, M., BURKE, V., ROBINSON, J. (1982):
Aeromonas-associated gastroenteritis.
Lancet. 11, 1304 - 1306.

14. HOLMBERG, S. D., SCHELL, W. L., FANNING, G. R. WACHSMUTH, I. K., HICKMAN-BRENNER, F. W., BLAKE, P. A, BRENNER, D. J., FARMER, J. J. III. (1986): *Aeromonas* intestinal infections in the United States. *Ann. Internat. Med.* 105, 683 - 689.
15. ISAACS, R. D., PAVIOUR, S. D., BUNKER, D. E., LANG, D. R. (1988): Wound infection with aerogenic *Aeromonas* strains: A review of twenty-seven cases. *Eur. J. Clin. Infect. Dis.*), 355 - 360.
16. KIROV, S. M., REES, B., WELLOCK, R. C., GOLDSMID, J. M., VAN GALEN, A. D. (1986): Virulence characteristics of *Aeromonas* spp. in relation to source and biotype. *J. Clin. Microbiol.* 24, 827 - 834.
17. KUIJPER, E. J., PEETERS, M. F. (1987): Het voorkomen van verschillende *Aeromonas* soorten in humane faeces. *Aeromonas* in drinkwater. KIWA-VWN-RIUM. Reehorst/Nederland, 92 - 98.
18. LJUNGH, A., WADSTRÖM, T. (1982): *Aeromonas* toxins. *Pharmac. Ther.* 15, 339 - 354.
19. MASCHER, F., REINTHALER, F. F., STÜNZNER, D., LAMBERGER, B. (1988): *Aeromonas* species in a municipal water supply of a Central European City: Biotyping of strains and detection of toxins. *Zbl. Bakt. Hyg. B* 186, 333 - 337.
20. MASCHER, F., LAMBERGER, B., REINTHALER, F. (1988): Survival time and growth of *Aeromonas hydrophila* in aquatic biotopes. Second international workshop on *Aeromonas* and *Plesiomonas*. Miami Beach, Florida.
21. MASCHER, F., REINTHALER, F. F., LAMBERGER, B. (1988): Versuche zur Vermehrungsfähigkeit und Überlebensdauer von *Aeromonas hydrophila* im entionisierten Wasser, Leitungswasser und eutrophen Oberflächenwasser. 31. Jahrestag der ÖGHMP, Baden.
22. MEGRAUD, F. (1986): Incidence and virulence of *Aeromonas* species in feces of children with diarrhea. *Eur. J. Clin. Microbiol.* 5, 311 - 316.
23. MILLERSHIP, S. E., CHATTOPADHYAY, B. (1985): *Aeromonas hydrophila* in chlorinated water supplies. *J. Hosp. Infect.* 6, 75 - 80.
24. MOYER, N. P. (1987): Clinical significance of *Aeromonas* Species isolated from patients with diarrhea. *J. Clin. Microbiol.* 25, 2044 - 2048.
25. POPOFF, M., VERON, M. (1976): A taxonomic study of the *Aeromonas hydrophila* — *Aeromonas punctata* group. *J. Gen. Microbiol.* 94, 11 - 22.
26. RAHIM, Z., KAY, B. A. (1988): Incidence of *Aeromonas* spp. and *Plesiomonas shigelloides* during a diarrheal epidemic in Bangladesh. Second international workshop on *Aeromonas* and *Plesiomonas*. Miami Beach, Florida.
27. RICHARDSON, C. L. L., ROBINSON, J. O., WAGENER, L. B., BURKE, B. (1982): In vitro susceptibility of *Aeromonas* spp. to antimicrobial agents. *J. Antimicrob. Chemoth.* 9, 267 - 274.
28. SANYAL, S. C., SEN, P. C., TIWARI, I. C., BHATIA, B. D., SINGH, S. J. (1977): Microbial agents in stools of infants and young children with and without acute diarrhoeal disease. *J. Trop. Med. Hyg.* 2 - 8.
29. SEN, R., JACOBS, B. (1969): Pathogenic intestinal organisms in the unfiltered water supply of Calcutta and the effect of chlorination. *Ind. Jour. Med. Res.* 57, 1220 - 1277.
30. STEPHAN, S., ACHYUTHA, R., KUMAR, M. S., INDRANI, R. (1975): Human infections with *Aeromonas* Species: Varied clinical manifestations. *Ann. Intern. Med.* 83, 368 - 369.
31. Von GRAEVENITZ, A. (1980): *Aeromonaden* als Erreger nosokomialer Infektionen. *Hyg. + Med.* 5, 289 - 296.
32. ZIMMERMANN, O. E. R. (1890): Die Bakterien unserer Nutz- und Trinkwässer. *Ber. Naturw. Ges. Chemnitz* 1, 38.

KORRESPONDENZADRESSE:

Dr. F. Mascher
Hygiene-Institut Graz
Universitätsplatz 4
A-8010 Graz · Austria

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mitteilungen der Österreichischen Gesellschaft für Tropenmedizin und Parasitologie](#)

Jahr/Year: 1989

Band/Volume: [11](#)

Autor(en)/Author(s): Mascher F., Reinthaler Franz, Sixl Wolf,
Schuhmann G., Enayat Uwe

Artikel/Article: [Aeromonas spp. aus Trinkwasser und Stuhlproben in Südindien: Isolierung, Charakterisierung und Toxinnachweis. 189-196](#)