DETECCIÓN DE ESPECIES DE AEROMONAS EN HECES DE NIÑOS ASINTOMÁTICOS

DETECTION OF AEROMONAS SPECIES IN FECES OF ASYMPTOMATIC CHILDREN

Piñero, M.¹; Quinteros A.¹; Tricase M.¹; Paz A.² y Fuenmayor A.³

- 1. Lic. en Bioanálisis
- **2.** Cátedra de Práctica Profesional de Bacteriología. Escuela de Bioanálisis. Universidad del Zulia.
 - 3. Cátedra en Bacteriología. Escuela de Bioanálisis. Universidad del Zulia

Resumen

Las enfermedades diarreicas constituyen un problema de salud pública a nivel mundial, especialmente en los países en vías de desarrollo, como Venezuela donde representan una causa importante de morbilidad y mortalidad infantil. Entre los principales agentes etiológicos bacterianos de esta entidad nosológica se encuentra el género Aeromonas, sin embargo, el significado clínico de su aislamiento no se ha establecido definitivamente. El propósito de esta investigación es detectar fenoespecies bacterianas del género Aeromonas en muestras de heces de niños aparentemente sanos, con la finalidad de esclarecer la existencia de portadores asintómaticos en nuestro medio y contribuir a dilucidar la importancia clínica de su aislamiento en pacientes con gastroenteritis. La investigación se llevó a cabo durante el período comprendido entre septiembre y diciembre de 1999; se colectaron y analizaron 122 muestras de heces de niños de ambos sexos, con edades comprendidas entre 3 meses y 6 años, registrados en 16 preescolares privados de la Parroquia Chiquinquirá del Municipio Maracaibo. El análisis de las muestras para la detección de fenoespecies del género Aeromonas se llevó a cabo empleando la metodología diagnóstica convencional, basada en pruebas bioquímicas. En las muestras analizadas se detectó 27,87% (34/122) de positividad a especies de Aeromonas. Aeromonas caviae resultó la especie más prevalente (52.78%), seguida de A. jandaei (19.44%) A. veronii biovar sobria (13.89%), A.

hydrophila (11.11%) y A. trota (2.78%). En la mayoría de los casos (94.1%) se aisló una sola especie por muestra. La distribución de los aislamientos por edad y sexo no resultó estadísticamente significativa (p>0.05). Los resultados obtenidos demuestran la existencia de un número considerable de portadores asintomáticos de Aeromonas entre los niños estudiados, por lo que resulta imprescindible realizar mayores investigaciones que contribuyan a establecer el significado de su aislamiento en pacientes con diarrea.

Palabras clave: Aeromonas, niños, portadores asintomáticos, heces.

Abstract

Diarrheic diseases constitutes a world problem of public health, specially in developing countries, such as Venezuela where gastroenteritis has an important place as a cause of infant mortality and morbidity. Finding bacteria of the genus Aeromonas among the main etiological agents. Despite that, the clinical meaning of their isolation is not completely established, due to the existence of healthy carriers. The purpose of this investigation was to detect bacterial species of the genus Aeromonas in fecal samples in apparently healthy children, to clarify the existence of asymptomatic carriers in our medium and to contribute to elucidating the clinical importance of its isolation in patients with gastroenteritis. This investigation took place during the period September-December 1999, and samples from 122 children of both sex groups were analyzed, with ages between 3 months and six years, enrolled in 16 kindergartens in the Chiquinquira prefecture of Maracaibo Municipality. The analysis of the samples for the detection of pheno-species of the genus Aeromonas was done using the conventional diagnostic methodology based on biochemical tests. In the analyzed samples 27,87% (34/122) were positive. The species of Aeromonas isolated by order of frequency were: A. caviae (52,78%), A. jandaei (19,44%), A. veronii biovar sobria (13,89%), A. hydrophila (11,11%) and A. trota (2,78%). In the majority of cases (94.1%) only one species per sample was isolated. The distribution of Aeromonas by age and sex group was not statistically significant (p>0,05). The results obtained in this investigation show the existence of a considerable number of a-symptomatic carriers of Aeromonas in the children studied, which makes it essential to carry out more research that contribute to establish the importance of their detection

in patients with diarrhea.

Key words: Aeromonas, children, a-symptomatic carriers, feces.

Recibido: 25-05-2001. Aceptado: 04-06-2001.

Introducción

Las enfermedades diarreicas constituyen uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial, especialmente en los países subdesarrollados donde representan una causa importante de morbilidad y mortalidad infantil (2,11,27,28). En Venezuela, durante el año 1996 las gastroenteritis se registraron en el octavo lugar como causa de muerte en la población general, en el segundo lugar en menores de un año y en el primer lugar en niños menores de cuatro años (25). En el estado Zulia la situación es similar: en el año 1998 las diarreas representaron la novena causa de mortalidad general y la segunda causa de letalidad para la población infantil (24).

Las diversas investigaciones que se han llevado a cabo sobre la etiología de la diarrea infecciosa en niños menores de cinco años señalan a los virus, especialmente los rotavirus, como principales agentes causales, seguidos por las bacterias enteropatógenas, siendo menos frecuentes los parásitos de hábitat intestinal. Sin embargo, las características epidemiológicas, los agentes etiológicos y la presentación clínica de las diarreas pueden variar y ser propias de un país, región o comunidad (33).

En relación a la etiología bacteriana, la frecuencia y distribución de los diversos microorganismos enteropatógenos es variable en las diferentes latitudes geográficas y guarda una estrecha relación con la edad del individuo afectado (4). En el estado Zulia, el Centro de Referencia Bacteriológica del Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo (S.A.H.U.M.) registra a las especies de *Aeromonas* como los principales microorganismos aislados de coprocultivos durante la última década, tanto en niños como en adultos, reportando cifras ascendentes que promedian un 40%. Durante 1999, en la División Pediátrica, el género *Aeromonas* ocupó un primer lugar (43,9%), seguido en orden de importancia por los géneros: *Shigella* (33.1%), *Campylobacter* (12.6%) *Salmonella* (8.4%), y *Plesiomonas shigelloides* (1.2%) (7). Existen igualmente, reportes provenientes de todo el mundo que

señalan una fuerte asociación de las aeromonas con las enfermedades diarreicas (1, 15, 19, 31).

A pesar que a nivel mundial las aeromonas se encuentran frecuentemente en muestras de heces provenientes de pacientes con gastroenteritis (1,15, 19, 31), su importancia como patógenos intestinales potenciales ha sido motivo de controversia durante muchos años (9,15,17). Algunos de los datos que sustentan su papel causal en la enfermedad diarreica son: (i) un mayor índice de aislamientos en pacientes sintomáticos versus personas asintomáticas, (ii) ausencia de otros patógenos entéricos en la mayoría de los pacientes sintómaticos portadores de especies de *Aeromonas*, (iii) detección de producción de exotoxinas por algunas especies, (iv) mejoría de la enfermedad diarreica con la administración de antibióticos activos contra *Aeromonas* y agravamiento clínico con el uso de antibióticos inactivos contra ellas e (v) indicios recientes de una respuesta inmune secretora específica a la infección por *Aeromonas* (22).

Sin embargo, otros investigadores han aportado datos contrarios que proporcionan fuertes evidencias en contra del significado de su aislamiento en muestras clínicas intestinales (9,14,17,23, 29,32), entre ellos: i) el reconocimiento de un estado de portador asintomático, con valores que oscilan entre 0,2 y 8% (ésta se considera una de las mayores evidencias de su falta de enteropatogenicidad), ii) no se han registrado hasta ahora brotes de enfermedad diarreica, relacionados epidemiológicamente, que puedan atribuirse a alguna especie de **Aeromonas**; y iii) la asociación bacteria-enfermedad no cumple completamente los postulados de Koch (no existe un modelo animal que reproduzca la enfermedad).

Debido a la elevada frecuencia con que se aísla **Aeromonas** como único enteropatógeno a partir de muestras de heces diarreicas, es imprescindible que se aclare la controversia existente sobre su importancia clínica. El propósito de este trabajo es detectar la presencia de fenoespecies bacterianas pertenecientes al género **Aeromonas** en muestras de heces provenientes de niños aparentemente sanos, con la finalidad de determinar la existencia de portadores asintomáticos de estos microorganismos en nuestro medio y contribuir a dilucidar su importancia en pacientes con gastroenteritis.

Materiales y Métodos

Unidades de estudio: En la investigación participaron 122 niños de ambos sexos, en edades comprendidas entre 3 meses y 6 años, seleccionados al azar de 16 Instituciones Privadas de Educación Preescolar, ubicadas en la Parroquia Chiquinquirá del Municipio Maracaibo, Estado Zulia. Los niños seleccionados corresponden al 10% de la matrícula de cada institución, los cuales, presumiblemente pertenecen a un nivel socioeconómico medio, y se desenvuelven bajo condiciones apropiadas de higiene y saneamiento ambiental. En la investigación se incluyeron únicamente niños aparentemente sanos, que no hubiesen presentado sintomatología digestiva, cuadros diarreicos, ni recibieran tratamiento con antimicrobianos, durante el mes previo a la toma de muestra.

Muestras: Durante el período comprendido entre septiembre y diciembre de 1999, se obtuvo una muestra de heces frescas de cada niño participante en el estudio, la cual se preservó en el medio de transporte de Cary y Blair hasta su procesamiento. El análisis de las muestras para la detección de fenoespecies de **Aeromonas**, se llevó a cabo en el Centro de Referencia Bacteriológica del Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo (S.A.H.U.M.).

Aislamiento e identificación de aeromonas: Para el cultivo y aislamiento de fenoespecies de *Aeromonas*, se empleó agar nutritivo en placa como medio no selectivo, incubado durante 24 horas a 35°C, en atmósfera aeróbica. Se utilizó además agua peptonada alcalina, como medio de enriquecimiento, el cual se repicó a un nuevo agar nutritivo luego de 6-8 horas de incubación a 35°C; en caso de que no fuese posible subcultivar en ese lapso de tiempo, los repiques se realizaron después de 18 horas de incubación a temperatura ambiente.

La identificación presuntiva de las colonias, como sospechosas del género **Aeromonas**, se basó en una reacción positiva a la prueba de oxidasa, un string test negativo (positivo en algunos casos) y reacciones bioquímicas características en los medios de Triple Azúcar Hierro (T.S.I.) y Lisina Hierro Agar (L.I.A.).

La identificación definitiva de los aislamientos se realizó de acuerdo al esquema diagnóstico convencional, basado en pruebas bioquímicas descrito por Janda J. y colaboradores (13) con algunas modificaciones introducidas por el Centro de Referencia Bacteriológica del S.A.H.U.M. Este esquema consta de las siguientes

pruebas: fermentación de los carbohidratos: sucrosa, arabinosa, manitol, inositol y salicin; decarboxilación de los aminoácidos: lisina, arginina y ornitina; producción de gas a partir de la glucosa; crecimiento en caldo con NaCl al 6.5%; hidrólisis de la esculina; Voges Proskauer e hidrólisis del ADN; además de la susceptibilidad a los antimicrobianos: ampicilina (10g), carbenicilina (100mg), cefazolina (30mg), colimicina (10 U), y polimixina B (300 U), determinado de acuerdo a los lineamientos establecidos por el N.C.C.L.S. (National Committee for Clinical Laboratories Standards) para bacilos Gram negativos.

Análisis Estadístico: Para el análisis estadístico de los datos se utilizó la prueba de c² (chi- cuadrado), con un nivel de significancia del 95% (p<0,05) con la corrección de Yates.

Resultados

Treinta y cuatro muestras de heces de las 122 procesadas (27,87%) fueron positivas para especies de *Aeromonas* (Figura 1) y en 2 de éstas (5,88%) se lograron identificar dos especies diferentes, por lo que en total, se obtuvieron 36 cepas.

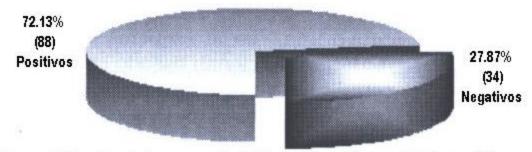


Figura 1. Detección de Aeromonas. Positividad en Heces. Parroquia Chiquinquirá. Municipio Maracaibo. Estado Zulia. Septiembre-Diciembre 1999.

La Figura 2 presenta la distribución de las especies de *Aeromonas* aisladas en las muestras analizadas. Se observa que el mayor porcentaje 52,78% (19/36) corresponde a *A. caviae*, le siguen en frecuencia *A. jandaei* (7/36; 19,44%), *A. veronii* biovar *sobria* (5/36; 13,89%), *A. hydrophila* (4/36; 11,11%) y finalmente *A. trota* (1/36; .2,78%).

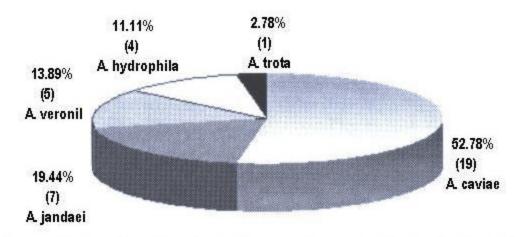


Figura 2. Distribución de Especies de Aéremonas. Parroquia Chiquinquirá Municipio Maracalbo. Estado Zulia. Septiembre-Diciembre 1999.

En el grupo etario correspondiente a niños menores de 1 año se obtuvo la mayor positividad (9/22; 40,9%) En los dos grupos restantes las cifras resultaron similares y considerablemente inferiores: 25% (Figura 3). Sin embargo, estas diferencias no resultaron significativas desde el punto de vista estadístico (p>0,05).

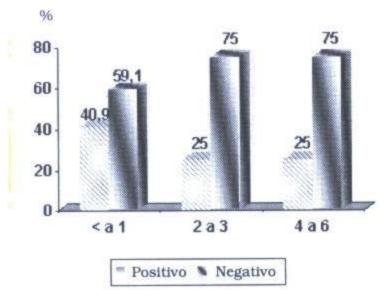


Figura 3. Detección de Resultados por Grupo etario. Parroquia Chiquinquirá. Municipio Maracaibo. Estado Zulia. Septiembre-Diciembre 1999.

La distribución de especies de **Aeromonas** por grupo etario se observa en la Figura 4. **Aeromonas caviae** se aisló en mayor porcentaje en todos los grupos estudiados: 75% (9/12) en niños de 4 a 6 años, 50% (5/10) en menores de un año y 35,7% (5/14) en el grupo de 2 a 3 años. Las otras especies se aislaron en porcentajes menores en los diferentes grupos, a excepción de **A. trota**, que sólo se aisló en los niños de 2 a 3 años. La distribución de especies de **Aeromonas** por edad no resultó significativa (p>0,05).

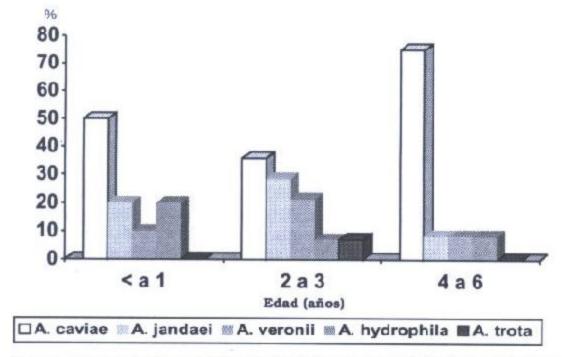


Figura 4. Distribución de Especies de Aeromonas por Grupos Etarios. Parroquia Chiquinqui Municipio Maracalbo. Estado Zulia. Septiembre-Diclembre 1999.

En cuanto al sexo, se obtuvo un mayor porcentaje de aislamientos en el género masculino que en el femenino (31,75%; 20/63 versus 23,73%; 14/45), diferencia ésta no significativa desde el punto de vista estadístico (Figura 5).

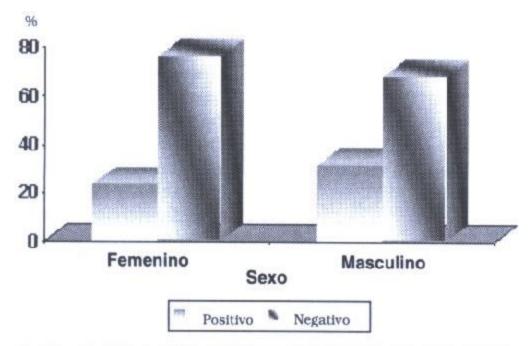


Figura 5. Detección de Aeromonas. Resultados por Sexo. Parroquia Chiquinquirá. Municipio Maracaibo. Estado Zulia. Septiembre-Diciembre 1999.

Discusión

Diversas investigaciones a nivel mundial, reportan porcentajes significativos de aislamientos de bacterias del género *Aeromonas* asociadas a cuadros diarreicos, los cuales oscilan entre 1,1 y 27% (8,16,26, 30). En Venezuela, los estudios sobre la importancia de las aeromonas en casos de diarreas, son muy variados. Una investigación conducida en las ciudades de Caracas, Cumaná, Mérida y Puerto Ordaz, ubica a estos microorganismos en cuarto lugar como agentes etiológicos bacterianos de gastroenteritis infantil (33), mientras que en el Estado Zulia, el C.R.B. del SAHUM las reporta en el primer lugar en coprocultivos de la División Pediátrica, durante 1998, con un 41,4% de aislamientos (6), de manera que la incidencia de estos microorganismos parece ser variable en las diferentes regiones del ámbito nacional, pero es particularmente elevada en la Región Zuliana.

A pesar de la frecuencia con la que se aíslan **Aeromonas** a partir de heces de individuos con enfermedad diarreica, su significado clínico es aún controversial. Algunas investigaciones han evidenciado la existencia de portadores sanos de estos microorganismos, en cifras variables que oscilan entre 0,2 y 8% (4,8,9,10,

12,18,20), lo cual dificulta el establecimiento de su poder enteropatógeno. En esta investigación se obtuvieron valores considerablemente mayores (27,87%); lo que indica que es elevado el número de portadores asintomáticos de este género entre los niños estudiados. La diferencia entre estas cifras y las reportadas en la literatura, podría también estar dada por la metodología empleada para la recolección, transporte y procesamiento de la muestra. En este estudio, las heces se procesaron inmediatamente después de ser emitidas, lo cual obviamente, favorece la viabilidad de las aeromonas e incrementa la probabilidad de recuperarlas en los medios de cultivo

También es posible que en nuestro medio existan cifras inusualmente elevadas de portadores asintomáticos de **Aeromonas**. Las condiciones de vida prevalecientes, como el clima, la calidad del agua potable suministrada a la comunidad y en general, el saneamiento ambiental, podrían determinar una alta probabilidad de infestación de la población con estos microorganismos, que habitan naturalmente en aguas frescas, contaminadas, estancadas y de reuso (8,9,18).

El grupo etario correspondiente a los menores de un año presentó el mayor número de aislamientos de *Aeromonas*. Otros investigadores han encontrado, igualmente, una mayor frecuencia de colonización en niños neonatos o lactantes (30), lo que implica que la infección por estos microorganismos puede ocurrir a muy temprana edad y probablemente contribuye a la adquisición de cierta inmunidad frente a éstos.

La mayoría de los autores refieren como probables enteropatógenos sólo a **A. hydrophila** y **A. veronii** biovar **sobria**, mientras que **A. caviae** se considera un aislamiento sin valor clínico (30). A pesar de ello, en muchas de las investigaciones, **A. caviae** constituye la especie aislada con mayor frecuencia a partir de las heces de pacientes con diarrea, cuyas cifras alcanzan hasta un 79,8% (12,30,31). En el CRB del SAHUM, esta especie representó durante el primer semestre de 1999 el 54,8% del total de **Aeromonas** aisladas en niños (6)

De igual forma, en este estudio **A. caviae** resultó la especie más prevalente, presentándose con una frecuencia elevada en todos los grupos etarios, seguida por **A. jandaei**, **A. veronii** biovar **sobria** y **A. hydrophila**. Figura y cols. (9) obtuvieron resultados similares en niños asintomáticos: **A. caviae** en primer

lugar, seguida de **A**. **veronii** biovar **sobria** y **A**. **hydrophila**. Algunos autores especulan que la mayoría de las afecciones gastrointestinales en niños que residen en climas cálidos son causadas inicialmente por **A**. **caviae**, lo cual les permite adquirir cierta inmunidad a esta especie, pero no a otras **Aeromonas** a las que permanecen susceptibles (21). Sin embargo, el CRB de Maracaibo registra igualmente a **A**. **caviae** como la especie más frecuente en coprocultivos de adultos, con una importancia comparable a la de **S**. **flexneri** (6).

A pesar que el papel patógeno de **A. caviae** no está claro, algunos estudios señalan que la mayoría de las cepas producen una enterotoxina similar a la de las otras especies, y que son capaces de adherirse in vitro a las células Hep-2 (4,5,23), por lo que estas propiedades podrían conferirle enteropatogenicidad. Es posible, que las cepas aisladas en los niños estudiados no presentaran estos mecanismos, de ahí el estado de portadores asintomáticos. Esta explicación sería también válida para otras especies como **A. hydrophila** y **A. veronii** biovar **sobria**.

En referencia al número de especies aisladas por muestra se obtuvo que dos de las 34 que resultaron positivas para *Aeromonas* (5,88%) presentaron 2 especies: *A. caviae/A. hydrophila* y *A. caviae/A. veronii* biovar *sobria*; el 94,12% restante corresponde a los aislamientos de una sola especie. Estos datos son similares a los encontrados en heces de niños con diarrea procesados en el C.R.B. del S.A.H.U.M. en el período septiembre 1999–abril 2000, donde el aislamiento de una sola especie de *Aeromonas* (82,1%) fue mayor que los de múltiples especies (2,2%) y que aquellos asociados a otros enteropatógenos (15,7%). Figura y cols. (9) también reportan en dos niños asintomáticos la combinación *A. caviae/A. hydrophila*. La presencia de *A. caviae* en dos coprocultivos acompañada de otras *Aeromonas*, así como también su aislamiento ocupando el primer lugar, permite sospechar que en un número considerable de coprocultivos de pacientes diarreicos, ellas pudieran estar presentes sin ser el agente causal.

En relación al hallazgo de las fenoespecies **A. trota** y **A. jandaei**, no existen evidencias definitivas de que estos microorganismos puedan comportarse como agentes etiológicos de diarrea, aún cuando se ha reportado su presencia en algunos casos (7). Estas especies se recuperan con bastante frecuencia a partir de heces, lo cual, se considera una consecuencia inevitable de su proliferación

en las fuentes de aguas frescas y agua potable durante los meses cálidos del año. El hecho de que se aíslen del tracto gastrointestinal no evidencia su patogenicidad, por lo que muchos de esos aislamientos probablemente reflejen sólo una colonización transitoria (15).

En conclusión, existe un porcentaje elevado de especies de *Aeromonas* en el tracto gastrointestinal de los niños estudiados, los cuales se comportan como portadores asintomáticos de estos microorganismos; por lo que resulta imprescindible realizar mayores investigaciones que contribuyan a dilucidar el significado de su aislamiento en pacientes con diarrea. Es recomendable realizar un seguimiento microbiológico de las personas infectadas asintomáticas, para determinar la persistencia de las especies de *Aeromonas* y/o la posibilidad de que desarrollen futuros cuadros diarreicos que pudieran atribuirse a estos microorganismos, así como también, estudiar los factores de virulencia de las cepas aisladas de individuos sintomáticos y asintomáticos.

Referencias Bibliográficas

- <u>1</u>. Altwegg, M.; Steigerwalt, A.; Altwegg, R.; Luthy, J.; and Brenner, D. Biochemical identification of *Aeromonas* genospecies isolated from humans. J. Clin. Microbiol. 1990: 28: 258-264.
- <u>2</u>. Bern, C.; Martines, J.; De Zoisa, I. and Class, R. The magnitude of the global problem of diarrhoeal disease: a ten-year update. Bull World Health Organ. 1992;70 (6): 705-714.
- <u>3</u>. Burke, V.; Gracey, M. *Aeromonas* species in human diarrhoeal disease. J Gastroenterol Hepatol. 1986; 1: 237-249.
- 4. Burke, V.; Gracey, M.; Robinson, J.; Peck, D.; Beaman, J. and Bundell, C. The microbiology of childhood gastroenteritis: *Aeromonas* species and other infective agents. J. Infect. Dis. 1983;148 (1): 68-74.
- <u>5</u>. Carrello, A.; Silburn, K.; Buddeq, J. and Chang, B. Adhesion of clinical and environmental *Aeromonas* isolates to hep-2 cells. J. Med. Microbiol.1988; 26: 19-27.
- <u>6</u>. Centro de Referencia Bacteriológica. Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo (S.A.H.U.M). Boletín sobre etiología y resistencia bacteriana. Segunda edición. 1998; 28-30.
- 7. Centro de Referencia Bacteriológica. Servicio Autónomo Hospital

- Universitario de Maracaibo (S.A.H.U.M). Boletín sobre etiología y resistencia bacteriana. Tercera edición. 2000; 81-82.
- <u>8</u>. Deodhar, L.; Saraswathi, K. and Varudkar, A. *Aeromonas* spp. and their association with human diarrheal disease. J. Clin. Microbiol.1991; 29 (5): 853-856.
- 9. Figura, N.; Marri, L.; Verdiani, S.; Ceccherini, C. and Barberi, A. Prevalence, species differentiation, and toxigenicity of *Aeromonas* strains in cases of childhood gastroenteritis and in controls. J. Clin. Microbiol. 1986; 23(3): 595-599.
- <u>10</u>. Freji, B.J. *Aeromonas*: biology of the organism and disease in children. Pediatr Infec Dis J. 1984; 3:164-175.
- 11. Guerrant, R.; Schorling, J.; McAuliffe, J.and De Souza, M. Diarrhea as a cause and effect of malnutrition increases diarrhea frequency and duration. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1992; 47: 28-35.
- <u>12</u>. Hunt, G.; Price, E.; Patel, U.; Messenger, I.; Stow, P.; Salter, P. Technical methods. Isolation of *Aeromonas* sp. from faecal specimens. J. Clin. Pathol. 1987; 40:1382-1384.
- 13. Janda, J.; Abbott, S.; and Carnahan, A. *Aeromonas* and *Plesiomonas*. In: Murray P., Baron E., P Faller M., Ternover F, and Yolken R. Manual of clinical Microbiology. Sixth edition. ASM Press. Washington, D.C. 1995: p. 480.
- <u>14</u>. Janda, J. Recent advances in the study of the taxonomy, pathogenicity, and infectious syndromes associated with the genus *Aeromonas*. Clin Microbiol. Rev. 1991; 4: 397-410.
- <u>15</u>. Janda, J. and Abbott, S. Evolving concepts regarding the genus **Aeromonas**: An expanding panorama of species, disease presentations, and unanswered questions. Clinical infectious diseases. 1998; 27: 332-344.
- <u>16</u>. Komathi, A.; Ananthan, S. and Alavandi, S. Incidencia & enteropathogenicity of *Aeromonas* spp in the children suffering from acute diarrhoea in chennai. Indian J Med Res. 1998; 107: 252-256.
- <u>17</u>. Koneman, E.; Allen, S.; Janda W.; Schereckenberger, P. and Winn, W. Color atlas and textbook of diagnostic Microbiology. 5th edition. Allen A. Philadelphia Lippincott-Raven Publishers. 1997: 350
- <u>18</u>. Kuhn, I.; Albert, M.; Ansaruzzaman, M.; Bhuiyan, N. and Alabi, S. Characterization of *Aeromonas* spp. isolated from humans with diarrhea, from

- healthy controls, and from surface water in Bangladesh. J. Clin. Microbiol. 1997; 35: 369-373.
- <u>19</u>. Kuijper, E.; Bol, P.; Peeters, M.; Steigerwalt, A.; Zanen, H. and Brenner, J. Clinical and epidemiological aspects of members of *Aeromonas* DNA hybridization groups isolates from human feces. J. Clin. Microbiol. 1989; 27:1531-1537.
- <u>20</u>. Kuijper, E.; Steigerwalt, A.; Schoenmakers, B.; Peeters, M.; Zanen, H. and Brenner D. Phenotypic characterization and DNA relatedness in human fecal isolates of *Aeromonas* spp. J. Clin. Microbiol. 1989; 27: 132-138.
- <u>21</u>. Altwegg, M.: *Aeromonas* and *Plesiomonas*. In: Murray P., Baron E., P 1Faller M., Tenover F. And Yolken R. Manual of clinical microbiology. 7th edition. ASM. Press. Washington D.C. 1999.
- <u>22</u>. Mcgowan, J. and Steinberg J. Otros Bacilos Gram Negativo: en Mandell, G.; Bennett, J. and Dolin, R. Enfermedades infecciosas. Principios y Práctica. Cuarta Edición. Tomo II. Mandell G. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana. 1997: 2363.
- 23. Millership, S.; Curnow, S.; and Chattopadhyay, B. Faecal carriage rate of *Aeromonas hydrophila*. J. Clin. Pathol. 1983; 36: 920-923.
- <u>24</u>.Ministerio de Sanidad y Asistencia Social. Anuario de epidemiología y estadística vital. 1998.
- <u>25</u>. Ministerio de Sanidad y Asistencia Social. Boletín epidemiológico semanal N° 52. Dirección de Vigilancia Epidemiológica 1996; 49, 3731: 564.
- <u>26</u>. Nojimoto, I.; Bezana, C.; Do Carmo, C.; Valadão, L.and Carrijo, K. Prevalência de *Aeromonas* spp em fezes diareicas de criancas menores de 5 años de idade na cidade de Goiânia, Goiás,. Biennium. Rev Soc Bras Med Trop. No Biênio 1995-1996; 30: 385-388.
- <u>27</u>. Pérez Schael, I.; Dehollain, P.; Pérez, M.; et al. Impacto de las enfermedades diarreicas en el estado nutricional del niño. An. Ven. Nutr.1998; 1: 119-128.
- <u>28</u>. Pérez Schael, I. The impact of rotavirus disease in Venezuela. J Infect. Dis.1996; 174: 19-21.
- 29. Pitarangsi, C.; Echeverría, P.; Whitmire, R.; et al. Enteropathogenicity of *Aeromonas hydrophila* and *Plesiomonas shigelloides*: prevalence among individuals with and without diarrea in Thailand. Infect. Immun. 1982; 35: 666-

673.

- <u>30</u>. Reina, J.; Hervás, J.; Serra, A. and Borrell, N. Estudio de las características clínicas y microbiológicas de 282 pacientes pediátricos con aislamiento de *Aeromonas* mesófilas en heces. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 1993; 11: 28-34.
- <u>31</u>. San Joaquin, V. and Pickett, D. *Aeromonas*-Associated gastroenteritis in children Pediatr. Infect. Dis. J. 1998; 7: 53-57.
- <u>32</u>. Turnbull, P.; Lee, J.; Miliotis, M.; et al. Enterotoxin production in relation to taxonomic grouping and source of isolation of *Aeromonas* species. J. Clin. Microbiol.1984; 19: 175-180.
- 33. Urrestarazu, M.; Liprandi, F.; Pérez, E.; González, R.; Pérez-Schael, I. Características etiológicas, clínicas y sociodemográficas de la diarrea aguda en Venezuela. Rev. Panam. Salud Public.1999; 6: 149-156.