

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

Factores de virulencia en cepas de *Aeromonas* aisladas de pacientes con enfermedad diarreica aguda en Cuba

Laura Bravo Fariñas,¹ Susana San Germán Suárez,² Anabel Fernández Abreu,³ Margarita Ramírez Álvarez,⁴ Luis Morier Díaz,⁵ Carlos Fernández Andreu,⁶ Luis E. Cabrera Rodríguez,⁷ Graciela Castro Escarpulli,⁸ Yudith Ledo Ginarte,⁹ Yusleidy Correa Martínez,⁹ Fidel Núñez Fernández¹⁰ y Yanaika Cruz Infante¹¹

RESUMEN

OBJETIVO: se realizó un estudio en cepas de *Aeromonas* aisladas de pacientes con enfermedad diarreica aguda en Cuba, para conocer la expresión fenotípica de la citotoxina y la enterotoxina como factores de virulencia. **MÉTODOS:** se investigaron 46 cepas (*A. hydrophila*, *A. veronii* biovar *sobria*, *A. caviae*, *A. veronii* biovar *veronii* y *Aeromonas* spp.), aisladas de heces de pacientes con enfermedad diarreica aguda, en el período comprendido entre 2005 y 2006. Todas las cepas tenían identificado su patrón de susceptibilidad antimicrobiana. Se comprobó la expresión fenotípica de la citotoxina y la enterotoxina en la línea celular Vero. **RESULTADOS:** el estudio demostró que 91,31 % de las cepas mostraron actividad citotóxica y 43,48 % actividad enterotóxica. De las cepas multirresistentes, 93,75 % presentó al menos un factor de virulencia estudiado. **CONCLUSIONES:** los resultados demostraron que los 2 factores de virulencia investigados estuvieron presentes en las cepas estudiadas, contribuyendo así a los múltiples esfuerzos que se realizan para conocer los mecanismos de enteropatogenicidad de este género bacteriano.

Palabras clave: *Aeromonas*, citotoxicidad, enterotoxigenicidad.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades diarreicas agudas (EDA) continúan siendo hoy día un serio problema y gran azote para la salud pública al nivel mundial, constituyen una de las principales causas de morbilidad y mortalidad entre los niños menores de 5 años de edad y uno de los principales problemas a los que se enfrentan los países subdesarrollados o en vías

de desarrollo. Esto provoca una gran demanda de atención en los servicios de salud y por tanto ocupa gran parte del tiempo del personal de salud de todos los países.¹

Como causas más frecuentes de infecciones intestinales están la inadecuada alimentación, los cambios estacionales, el uso inadecuado de medicamentos y la infección por agentes biológicos como: virus (*Rotavirus*, *Enterovirus*, *Calicivirus*),

¹ Doctora en Ciencias de la Salud. Investigadora Titular. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK). Ciudad de La Habana, Cuba.

² Licenciada en Microbiología. Máster en Bacteriología Micología. Hospital Guanajay, La Habana.

³ Ingeniera Química. IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

⁴ Doctora en Ciencias Médicas. Investigadora Titular. IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

⁵ Licenciado en Microbiología. Investigador Auxiliar. IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

⁶ Doctor en Ciencias de la Salud. Investigador Titular. IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

⁷ Especialista en Microbiología. Máster en Bacteriología Micología. Centro Municipal de Higiene y Epidemiología. Güines, La Habana, Cuba.

⁸ Doctora en Ciencias. Laboratorio de Bacteriología Médica. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. México DF, México.

⁹ Licenciada en Microbiología. IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

¹⁰ Especialista de II Grado en Microbiología. Doctor en Ciencias Médicas. Investigador Titular. IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

¹¹ Técnica en Química Industrial. IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

protozoos (*Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* spp., *Isospora belli*), levadura (*Candida albicans*) y bacterias (*Clostridium difficile*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Escherichia coli*, *Yersinia* spp., *Campylobacter* spp., *Vibrio* spp., *Plesiomonas shigelloides* y *Aeromonas* spp.).²

Algunas de las especies de *Aeromonas* son consideradas patógenos emergentes en humanos, las cuales en la actualidad son un problema para la salud pública, desempeñando un papel importante al nivel del tracto gastrointestinal y además causan infecciones extraintestinales.³

Los mecanismos de patogenicidad en las infecciones causadas por especies de este género, no se han establecido con exactitud; sin embargo, se han identificado un gran número de estructuras de la superficie celular como: pili o fimbrias, flagelo, cápsula, capa "S", lipopolisacáridos (LPS), proteínas de membrana externa (PME), hemaglutininas, sistema de secreción tipo III (SSTT) y productos extracelulares como toxinas, enzimas y sideróforos entre otros, considerados factores de virulencia. Estos parecen desempeñar un papel importante en la patogénesis de las infecciones intestinales y sistémicas producidas por *Aeromonas*, que hacen más complejo el cuadro clínico del paciente.⁴

El aumento de los aislamientos de este microorganismo a partir de productos patológicos intestinales y extraintestinales, ha conducido a la profundización en el estudio de la patogenicidad en este género.⁴ Esto motivó a realizar la presente investigación, con el objetivo de conocer la expresión fenotípica de la citotoxina y la enterotoxina en cepas de *Aeromonas* aisladas de pacientes con enfermedad diarreica aguda, para así determinar la presencia de estos factores de virulencia en cepas cubanas y con ello contribuir al mejor conocimiento de la enteropatogenicidad asociada a este género bacteriano.

MÉTODOS

Se estudiaron los factores de virulencia citotoxina y enterotoxina en 46 cepas del género *Aeromonas* (*A. hydrophila* [9], *A. veronii* biovar *sobria* [2], *A. caviae* [19], *A. veronii* biovar *veronii* [1], *Aeromonas* spp. [15]), aisladas de

heces de pacientes con EDA y procedentes de 8 Centros Provinciales de Higiene y Epidemiología del país, recibidas y conservadas en el Laboratorio Nacional de Referencia de Enfermedades Diarreicas Agudas del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (LNR/EDA/IPK), en el período comprendido entre 2005 y 2006. Se realizaron las pruebas fisiológicas y bioquímicas para la confirmación de género según los criterios de *Koneman* y otros.⁵ Todas las cepas tenían identificado su patrón de susceptibilidad antimicrobiana y 16 presentaban diferentes patrones de multi-resistencia.

Determinación de la expresión fenotípica de la citotoxina en células Vero

Se realizó según *Balaji* y otros en 2004.⁶ Las células Vero fueron puestas en contacto con 100 µL del filtrado de un cultivo libre de células bacterianas por 18 a 24 h a 37 °C en incubadora con 5 % de CO₂. Una respuesta positiva fue registrada cuando hubo cambios morfológicos en la monocapa, dado por vacuolización y degeneración celular (lisis celular) de ≥ 50 % de la capa de células, atribuibles al efecto citopático de la citotoxina. Se utilizaron como controles: positivo el sobrenadante de cultivo de la cepa *A. hydrophila* 9911 del Hospital "Princess Margaret" de Australia, negativo el sobrenadante de cultivo de *Escherichia coli* 0: 101 K: 99, control de células Vero sin inocular y medio de cultivo (tripticosa soya más 0,6 % extracto de levadura) y medio mínimo esencial sin inocular.

Determinación de la expresión fenotípica de la enterotoxina en células Vero

Se realizó según *Vadivelu* y otros en 1991.⁷ El filtrado se calentó a 56 °C por 10 min para desnaturalizar algunas citotoxinas presentes. Las células fueron puestas en contacto con 100 µL de un filtrado de un cultivo libre de células bacterianas, durante 18 a 24 h a 37 °C, en incubadora con 5 % de CO₂. Una respuesta positiva fue registrada cuando hubo cambios morfológicos en la monocapa, dado por redondeamiento celular (no lisis)

de $\geq 50\%$ de la capa de células, atribuibles al efecto citopático de la enterotoxina. Se utilizaron como controles: positivo el sobrenadante de cultivo de *E. coli* 0: 101 K: 99 y negativos el sobrenadante de cultivo de *E. coli* 0: 149 K: 88, control de células Vero sin inocular y medio de cultivo tripticasa soya más 0,6 % extracto de levadura y medio mínimo esencial sin inocular.

Procesamiento estadístico

Los análisis estadísticos fueron realizados usando pruebas de proporciones para comparar los porcentajes (prueba exacta de Fisher). En todos los casos las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas cuando el valor de p fue menor que 0,05. Todos los datos fueron almacenados y procesados empleando los paquetes de programas para análisis estadísticos *GraphPad Prism* versión 3.03 para *Windows*⁸ y *EPIINFO*, versión 6.04.⁹ Los resultados fueron tabulados utilizando el programa *Microsoft Excel* del paquete de programas de *Office*.

RESULTADOS

De las 46 cepas, 42 (91,31 %) mostraron actividad citotóxica en células Vero. Atendiendo a los resultados obtenidos, se puede plantear que el porcentaje de cepas que presentó expresión fenotípica para la citotoxina en células Vero fue superior al de los aislamientos que no lo expresaron.

Al realizar la distribución por especies se encontró que 100 % de las cepas de *A. hydrophila*, *A. veronii* biovar *sobria*, *A. caviae* y *A. veronii*

biovar *veronii* mostraron actividad citotóxica en células Vero. Mientras que de las 15 cepas de *Aeromonas* spp., 11 (77,33 %) resultaron citotóxicas, demostrándose que no existen diferencias significativas entre los porcentajes de citotoxicidad obtenidos ($p > 0,05$).

El estudio de la expresión fenotípica de la enterotoxina demostró que 20 de las 46 cepas estudiadas (43,48 %) mostraron actividad enterotóxica en células Vero.

Todas las cepas de *A. hydrophila*, *A. veronii* biovar *sobria* y *A. veronii* biovar *veronii* mostraron actividad enterotóxica en células Vero. En 5 de las cepas de *A. caviae* (26,31 %) y en 3 de las cepas de *Aeromonas* spp. (20 %) se expresó actividad enterotóxica. La comparación entre los porcentajes obtenidos respecto al total de cepas correspondientes a *A. caviae* y *Aeromonas* spp. mostró diferencias estadísticamente significativas con respecto a las otras 3 especies ($p < 0,01$) (tabla).

Al analizar la expresión fenotípica de los 2 factores de virulencia investigados en las 16 cepas multirresistentes se obtuvo como resultado que 15 cepas (93,75 %) mostraron actividad citotóxica y en 8 (50 %) se evidenció actividad enterotóxica; se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos marcadores estudiados ($p < 0,05$).

En 8 cepas (50 %) se observaron los 2 factores de virulencia, 7 cepas (43,75 %) mostraron solo 1 y en 1 (6,25 %) no se observó ninguno; mediante análisis estadístico se demostró que entre las cepas multirresistentes predominaban aquellas que presentaban factores de virulencia sobre las que no lo expresaban ($p < 0,001$) (la actividad citotóxica resultó el más frecuente de los 2 factores asociados).

Tabla. Expresión fenotípica de los factores de virulencia en las cepas en estudio

Especie	No. de cepas	Actividad citotóxica (No./%)	Factores de virulencia	
			Actividad enterotóxica (No./%)	Ambas (No./%)
<i>A. hydrophila</i>	9	9/100	9/100	9/100
<i>A. caviae</i>	19	19/100	5/26,3	5/26,3
<i>A. veronii</i> bv <i>sobria</i>	2	2/100	2/100	2/100
<i>A. veronii</i> bv <i>veronii</i>	1	1/100	1/100	1/100
<i>Aeromonas</i> spp.	15	11/77,3	3/20	3/20
Total	46	42/91,3	20/43,4	20/43,4

DISCUSIÓN

La gastroenteritis aguda es la forma de presentación clínica más frecuente de las infecciones producidas por *Aeromonas*; este es uno de los géneros bacterianos más ampliamente distribuidos en la naturaleza, con un gran potencial (y alta frecuencia) para causar enfermedad diarreica en niños menores de 5 años. En las últimas décadas se han publicado numerosos trabajos en los cuales se ha evidenciado un incremento de las infecciones intestinales y extraintestinales, causadas por los miembros de este género, que constituyen una amenaza grave para la salud de la población mundial por el amplio espectro de manifestaciones clínicas que producen.^{10,11}

Se ha atribuido la posible significación clínica de las especies del género *Aeromonas* en las enfermedades gastrointestinales; la asociación de diferentes factores de virulencia, entre los que se encuentran la citotoxina y la enterotoxina.¹²

Los resultados del presente estudio están acorde con los presentados por *Ghatak* y otros, en la India en 2006, quienes a partir de sobrenadante de cultivos de 55 cepas de *Aeromonas* spp., llevaron a cabo un estudio comparativo de citotoxicidad en 4 líneas celulares diferentes, que mostró 92,72 % de potencial citotóxico en células Vero, por lo cual resulta ser esta línea celular la más sensible a los cambios citotóxicos.¹³

Otras investigaciones similares son las realizadas por *Balaji* y otros, quienes estudiaron un total de 36 cepas de *Aeromonas* aisladas de fuentes ambientales en Vellore, India y obtuvieron que todos los aislamientos (correspondientes a *A. hydrophila*, *A. veronii* biovar *sobria* y *Aeromonas caviae*) produjeron efectos citotóxicos dados por desprendimiento y degeneración celular en la línea celular Vero;⁶ además *Cabrera* y otros en Cuba, a partir de cepas de *Aeromonas* de origen extraintestinal, obtuvieron en todas las cepas de *A. hydrophila* investigadas signos de citotoxicidad en esta misma línea celular.¹¹

Los resultados obtenidos en la presente investigación difieren de los obtenidos por *Ullmann* y otros en un estudio realizado a partir de 134 cepas de *Aeromonas* aisladas de alimentos procedentes del mar en Berlín, cultivadas a 37 °C, quienes obtuvieron solo 17,9 % de cepas que mostraron efecto citotóxico en la línea celular Vero.¹⁴

Los resultados del presente trabajo no coinciden con *Filler* y otros,¹⁵ quienes no encontraron efecto citotóxico en línea celular Vero a partir de cepas de *A. sobria* aisladas de fuente extraintestinal.

La acción *in vitro* de las enterotoxinas se distingue por su capacidad de producir redondeamiento celular, pero no lisis.¹⁶ En relación con la expresión fenotípica de la enterotoxina, los resultados de este trabajo coinciden con los obtenidos por *Martins* y otros en 2007 en Brasil, quienes a partir de un estudio realizado en cepas de *Aeromonas* aisladas de fuentes clínicas y de alimentos obtuvieron valores de actividad enterotóxica 29,4 y 18,2 %, respectivamente. Se observaron índices más bajos comparados con la actividad citotóxica.¹⁷

Resultados divergentes a los de este estudio fueron obtenidos por *Longa* y otros en 2005, en Mérida, Venezuela, y constatan una mayor producción para la actividad enterotóxica (59,3 %), con respecto a la actividad citotóxica. Sin embargo, el estudio realizado por estos investigadores mostró un predominio de la expresión fenotípica de la enterotoxina en la mayoría de los aislamientos de *A. hydrophila* y en un menor porcentaje en *A. caviae*, resultados que coinciden con los obtenidos en el presente estudio.¹⁸

Los resultados de esta investigación no coinciden con los obtenidos por *Krzyszka* y otros en Polonia, quienes realizaron un estudio de patogenicidad a partir de 20 cepas de *Aeromonas caviae* aisladas de heces de niños con síntomas diarreicos, donde se reporta que la mayoría de los aislamientos mostraron gran actividad enterotóxica en células CHO.¹⁹

Investigaciones recientes demuestran que la distribución de especies y la proporción de cepas productoras de toxinas puede variar en diferentes regiones geográficas, y la expresión fenotípica de estas propiedades asociadas a la virulencia difiere entre los aislamientos de origen clínico y ambiental.⁴ Los resultados obtenidos en las cepas clínicas cubanas son coherentes con los estudios publicados internacionalmente.

La resistencia bacteriana a los antimicrobianos, junto con la presencia de factores de virulencia, constituye un serio y creciente problema para la salud en el ámbito mundial. *Scoaris* y otros en Brasil, realizaron un estudio a partir de cepas de *Aeromonas* aisladas de diferentes fuentes de agua

y observaron la presencia de factores de virulencia en las cepas de *Aeromonas* multirresistentes estudiadas.²⁰

Investigaciones realizadas por Ghatak y otros en la India, a partir de cepas de *Aeromonas* spp. aisladas de diversas fuentes, mostraron la presencia de diferentes factores de virulencia como: hemolisina y citotoxicidad en línea celular Vero, los cuales junto con la multirresistencia bacteriana, constituyeron un importante riesgo de salud humana en esa área.¹³

En una investigación utilizando cepas de *Aeromonas* aisladas de muestras clínicas intestinales, realizada por Obi y otros en el período comprendido entre 2004 y 2005 en la región de Venda en Sudáfrica, demostraron la presencia de los factores de virulencia (citotoxina y enterotoxina) asociados a la multirresistencia de las cepas.²¹

De igual modo los resultados de esta investigación son similares a los obtenidos por Soler y otros en 2002 en un estudio realizado a partir de cepas de *A. popoffii*, aisladas de fuentes de aguas dulces y saladas, quienes mostraron que las cepas multirresistentes estudiadas, evidenciaron un potencial patogénico alto, dado por la prevalencia de múltiples factores de virulencia, incluidos los del presente estudio.²²

Estudios recientes han propuesto que las cepas de *Aeromonas* spp. en las cuales se han evidenciado la citotoxigenicidad y enterotoxigenicidad pueden ser consideradas patogénicas.⁴ El hecho de haberse demostrado la evidencia de estas toxinas en cepas multirresistentes potenciaría su papel como agente infeccioso, lo cual contribuye a la vigilancia clínico-epidemiológica de este agente en Cuba.

Los hallazgos obtenidos en el presente estudio, le dan continuidad a los ya existentes en el LNR/EDA/IPK en relación con la resistencia antimicrobiana y los factores de virulencia que caracterizan este género bacteriano en cepas aisladas de pacientes con enfermedad diarreica en Cuba, contribuyendo de este modo a los múltiples esfuerzos que se realizan al nivel internacional para dilucidar la patogénesis de este microorganismo, como agente etiológico de EDA.

Virulence factors in *Aeromonas* strains isolated from patients with acute diarrheas in Cuba

ABSTRACT

OBJECTIVE: A study was carried out in *Aeromonas* strains isolated from patients with acute diarrheas in Cuba to find out the phenotypical expression of the cytotoxin and the enterotoxin as virulence factors. **METHODS:** Forty six strains of the genus *Aeromonas*: (*A. hydrophila*, *A. veronii* bv *sobria*, *A. caviae*, *A. veronii* bv *veronii* and *Aeromonas* spp.) isolated from stool specimens taken from patients with acute diarrheal disease were studied from 2005 to 2006. All the strains had their pattern of antimicrobial susceptibility pattern identified. The phenotypic expression of the cytotoxin and the enterotoxin in the Vero cell line was checked. **RESULTS:** It was demonstrated that 91,31 % of the strains showed cytotoxic activity and 43,48 % of them enterotoxic activity. Regarding multiresistant strains, 93,75 % presented with at least one of the studied virulence factors. **CONCLUSIONS:** these results proved that the two researched virulence factors did exist in the studied strains, thus contributing to the many efforts that are being made to learn about the mechanisms of enteropathogenicity of this bacterial genus.

Key words: *Aeromonas*, cytotoxicity, enterotoxigenicity.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Freijoso E, Cires M, Silva L, Delgado I, Riverón R, Ramirez M. Guía para la práctica de las enfermedades diarreicas agudas. Rev Cubana Med Gen Integr. 2003;19(4):864-5.
- Guerrant RL, Gilder TV, Steiner TS, Thielman NM, Slutsker L, Tauxe RV. Practice guidelines for management of infectious diarrhea. Clin Infect Dis. 2001;32:331-50.
- Moreno C, Gatell A, Vila E. Gastroenteritis infecciosa en el adulto inmunocompetente e inmunodeprimido. Enf Infect. 2002;8(71):3789-95.
- Galindo CL, Chopra AK. *Aeromonas* and *Plesiomonas* species. En: Doyle MP, Beuch LR, editors. Food microbiology: fundamentals and frontiers. Washington, D.C: ASM Press; 2007. p. 1-56.
- Koneman EW, Allen SD, Dowell VR, Janda WN, Sommers HM, Winn WC. Diagnóstico microbiológico. 3^{era}. ed. Buenos Aires:Editorial Médica Panamericana; 1998.
- Balaji V, Jesudason MV, Sridharan G. Cytotoxin testing of environmental *Aeromonas* spp. in Vero cell culture. Indian J Med Res. 2004;119(5):186-9.
- Vadivelu J, Puthuchery S, Navaratman P. Exotoxin profiles of clinical isolates of *Aeromonas caviae*. J Med Microbiol. 1991;35:363-367.
- Motulsky HJ. Analyzing Data with GraphPad Prism, 1999, GraphPad Software Inc., San Diego CA. [Manual en línea] [citado de 9 de agosto 2007]; Disponible en: URL: <http://www.graphpad.com/manuals/PrismUsersGuide.pdf>.
- Dean AG, Dean JA, Coulombier D, Brendel KA, Smith DC, Burton AH, et al. Epi Info Version 6: A Word Processing, Database, and Statistics Program for Epidemiology on Microcomputers. Atlanta, GA: Centers for Disease Control; 1994.
- Ledo GY. Susceptibilidad antimicrobiana y factores de virulencia en cepas de *Aeromonas* aisladas de pacientes con enfermedad diarreica aguda [trabajo de diploma]. Ciudad de La Habana: Universidad de La Habana; 2006.
- Cabrera LE, Castro G, Ramirez M, Llop A, Llanes R, Castañeda N, et al. Aislamiento e identificación de especies

- pertenecientes a los géneros *Aeromonas*, *Vibrio* y *Plesiomonas* procedentes de muestras extra-intestinales en Cuba. *Rev Chilena Infectol*. 2007;24(3):204-8.
12. Aricaga-Garibay RI, Aguilera MG, Navarro A, Molina J, Cravioto A, Valdespino A. El papel del flagelo lateral en la adherencia de *Aeromonas* spp. *Difusión Internacional*. 2005;30:95.
 13. Ghatak S, Agarwal RK, Bhilegaonkar KN. Prevalence, characterisation and antibiotic profiles of *Aeromonas* of diverse origin. Halifax, Nova Scotia:8th International Symposium on *Aeromonas* and *Plesiomonas* Jun 15-17; 2005. p. 70.
 14. Ullmann D, Krause G, Knabner D, Weber H, Beutin L. Isolation and characterization of potentially human pathogenic cytotoxin producing *Aeromonas* strains from retail seafood in Berlin Germany. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*. 2005;52(2):82-7.
 15. Filler G, Ehrich JHH, Lothar ESB. Acute renal failure in an infant associated with cytotoxic *Aeromonas sobria* isolated from patient's stool and from aquarium water as suspected source of infection. *J Clin Microbiol*. 2000;38(1):469-70.
 16. Chopra AK, Xu XJ, Ribardo D, González M, Kuhl K, Peterson JW, et al. The cytotoxic enterotoxin of *Aeromonas hydrophila* induces proinflammatory cytokine production and activates arachidonic acid metabolism in macrophages. *Infect Immun*. 2000;68:2808-18.
 17. Martins LM, Catani CF, Falcon RM, Carbonell GV, Azzoni AA, Yano T. Induction of apoptosis in Vero cells by *Aeromonas veronii* biovar *sobria* vacuolating cytotoxic factor. *FEMS Immun Med Microbiol*. 2007;49(2):197-204.
 18. Longa A, Vizcaya L, Nieves B, Bravo L, Morier L, Perez-Schael I, et al. Factores de virulencia asociados a la enteropatogenicidad en cepas de *Aeromonas* spp, aisladas de niños con diarrea en Mérida, Venezuela. *Rev Cubana Med Trop*. 2005;57(2):85-91.
 19. Krzyminska S, Kaznowski A, Lindner K, Mnichowska M. Enteropathogenic activity and invasion of Hep-2 cells by *Aeromonas caviae* clinical isolates. *Acta Microbiol Pol*. 2003;52(3):277-83.
 20. Scoaris DD, Colacite J, Nakamura CV, Ueda-Nakamura T, de Abreu Filho BA, Días Filho BP. Virulence and antibiotic susceptibility of *Aeromonas* spp. isolated from drinking water. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2007;93(1-2):111-22.
 21. Obi CI, Ramalivhana J, Igumbor EO, Samie A. *Aeromonas* species isolated from clinical samples in the Venda region of South Africa: Prevalence, hemolysis, hemagglutination, beta lactamase production and antibiotic susceptibility profiles of the isolates. Halifax, Nova Scotia:8th International Symposium on *Aeromonas* and *Plesiomonas* Jun 15-17; 2005. p. 73.
 22. Soler L, Figueras MJ, Chacón MR, Vila J, Marco F, Martínez-Murcia AJ, et al. Potential virulence and antimicrobial susceptibility of *Aeromonas popoffi* recovered from freshwater and seawater. *FEMS Immun Med Microbiol*. 2002;32:243-7.
- Recibido: 22 de abril de 2008. Aprobado: 30 de abril de 2008.
 Dra. Laura Bravo Fariñas. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Km 6 1/2, Autopista Novia del Mediodía. AP 601, CP 11300. Lisa, Ciudad de La Habana. Cuba. Correo electrónico: laura@ipk.sld.cu