
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS



**INCIDENCIA DE *Aeromonas hydrophila*, *A. sobria* y *A. caviae* EN MUESTRAS
DE AGUA POTABLE DE LA ZONA CONURBADA DE GUADALAJARA QUE
INGRESARON AL CEESLAB DE OCTUBRE DEL 2003 A ABRIL 2004**

**TRABAJO DE TITULACIÓN EN LA MODALIDAD DE
TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA
PRESENTA**

**CITLALLI DE MARIA CASTELLANOS JIMENEZ
Las Agujas, Zapopan, Jalisco, Febrero de 2005**



Universidad de Guadalajara
Centro Universitario de Ciencias Biológicas y
Agropecuarias

Coordinación de Titulación y Carrera de Licenciatura
en Biología

102/ C. C. BIOLOGÍA

C. CITALLI DE MARÍA CASTELLANOS JIMÉNEZ
PRESENTE

Manifestamos a usted que con esta fecha ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de: **TESIS E INFORMES** opción **TESIS** con el título : “ *Incidencia de **Aeromonas hydrophila**, **A. sobria** y **A. caviae** en muestras de agua potable de la zona conurbada de Guadalajara que ingresaron al CEESLAB de Octubre del 2003 a Abril del 2004 ” para obtener la Licenciatura en Biología.*

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptada como Director / a de dicho trabajo al **M en C. ALEJANDRO OROZCO JÁUREGUI** y el asesor/a **M en C. JOSEFINA CASAS SOLÍS**

Sin más por el momento, le envío un caluroso saludo.

ATENTAMENTE
“PIENSA Y TRABAJA”

Las Agujas, Zapopan., 27 de Enero del 2005

DR. CARLOS ALVAREZ MOYA
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN



COORDINACIÓN DE LA CARRERA DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PA

DRA. ANA ISABEL RAMIREZ QUINTANA
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN

Dr. Carlos Álvarez Moya.
 Presidente del Comité de Titulación.
 Carrera de Licenciado en Biología.
 CUCBA.
 Presente


Por medio de la presente nos permitimos informar a usted que habiendo revisado el trabajo de titulación, modalidad tesis opción con el título: "**Incidencia de *Aeromonas hydrophila*, *A. Sobria* y *A. caviae* en muestras de agua potable de la zona conurbada de Guadalajara que ingresaron al CEESLAB de Octubre del 2003 a Abril 2004**" que realizó el/la pasante **Cittalli de Maria Castellanos Jimenez** con número de código 396249411 consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorización de impresión.

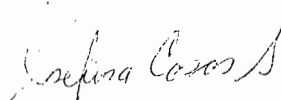
Sin otro particular quedamos de usted con un cordial saludo.

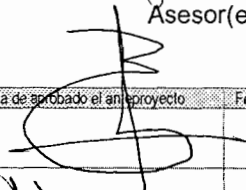
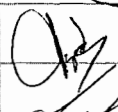
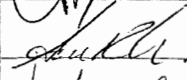
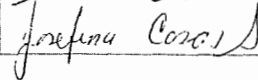
Atentamente
 Las Agujas, Zapopan Jal, 19 Enero 2005

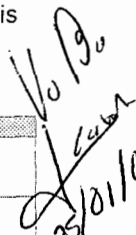


COORDINACIÓN DE LA CARRERA DE
 LICENCIADO EN BIOLOGÍA


 Alejandro Jáuregui Orozco
 Biol. Alejandro Jáuregui Orozco
 Director/a del trabajo


 M.C. Josefina Casas Solís
 Asesor(es)

Nombre completo de los Sinodales asignados por el Comité de Titulación	Firma de aprobado el anteproyecto	Fecha de aprobación
Dr. García Velasco Javier		
M.C. Bonilla Moreno Margarita		
M.C. Rosas Ramírez aurora Supl.		
M.C. Casas Solís Josefina		


 25/01/05

AGRADECIMIENTOS

- ❖ A Dios por darme la vida y permitirme lograr uno de mis sueños.
- ❖ A mi madre y a mi padre por darme tantos motivos para lograr mi meta.
- ❖ A mis hermanos y a Luis Alejandro Camargo R. por su cariño, porque siempre me apoyaron, escucharon y me dieron la fortaleza para seguir adelante.
- ❖ A mi director de tesis, Biol. Alejandro Jáuregui, por su ayuda, paciencia y apoyo.
- ❖ A mi asesor M.C. Josefina Casas por sus consejos, asesoría y ayuda.
- ❖ A mis maestros en general por transmitir todos sus conocimientos.
- ❖ A la Universidad de Guadalajara por darme la oportunidad de superarme académicamente.
- ❖ Al Centro Estatal de Laboratorios (CEESLAB) y al laboratorio de microbiología médica por el espacio que me brindaron.
- ❖ A mis amigos Mayra, Vanesa, Pascual, Miguel y demás compañeros por el apoyo que me brindaron y por esos momentos tan maravillosos que pasamos juntos.
- ❖ A todos aquellos que en cierto momento estuvieron para que yo pudiera culminar esta etapa.

El presente trabajo fue realizado en el laboratorio de Microbiología Medica del Centro Estatal de Laboratorios (CEESLAB) de la Secretaria de Salud Publica del Estado de Jalisco.

Director de Tesis: Biol. Alejandro Jáuregui Orozco.

INDICE DE CONTENIDO

	Página
1. ANTECEDENTES	1
2. GENERALIDADES	4
2.1 CLASIFICACIÓN	5
2.2 MORFOLOGÍA COLONIAL	5
2.2.1 Diferenciación bioquímica	5
2.2.2 Crecimiento	6
2.2.3 Ecología	6
2.2.4 Comportamiento epidemiológico	7
2.2.5 Patogenicidad	8
2.2.5.1 Factores asociados	9
2.2.6 Fisiología de la diarrea	11
2.2.6.1 Diarrea	11
2.2.6.2 <i>Aeromonas</i> como agente causal de diarrea	12
2.2.7 Tratamiento	12
2.2.8 Vías de transmisión	13
3. JUSTIFICACIÓN	15
4. OBJETIVOS	17
5. HIPOTESIS	19
6. MATERIAL Y METODOS	21
6.1 PROCESO PARA LA TOMA DE MUESTRA EN AGUAS POTABLES	23
6.2 PROCESO DE ANALISIS EN EL LABORATORIO	24
6.3 DIAGRAMA DE FLUJO	25
6.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN PARA LA TOMA DE MUESTRA	26
7. RESULTADOS	27
8. DISCUSIÓN	33
9. CONCLUSIONES	36
10. RECOMENDACIÓN	38
11. BIBLIOGRAFIA	40

1. ANTECEDENTES

El género *Aeromonas* está clasificado en el manual de Bacteriología Determinativa de Bergey (1984) como miembro de la familia *Vibrionáceae*. Sin embargo, los estudios realizados por Colwell y cols. (1986) demostraron en base al análisis de las secuencias de los genes que el género *Aeromonas* presenta una evolución filogenética distinta y propusieron elevar al género *Aeromonas* a la categoría de familia *Aeromonadaceae* por lo tanto, de esta manera se ha reportado en publicaciones recientes.

Debido a la nueva introducción del cólera al continente americano, en junio de 1991 en México la Secretaria de Salud difundió información sobre los procesos de laboratorio para aislar, diferenciar e identificar *Vibrio cholerae* O1 de muestras humanas, de alimentos y aguas. Basado en el Manual de técnicas y procedimientos de laboratorio para la investigación *Vibrio cholerae* O1 (manual técnico. SSA).

Por las referencias de casos de diarrea, donde el agente etiológico se relacionó con *Aeromonas* el Laboratorio de Microbiología Médica del Centro Estatal de Laboratorios se dio a la tarea de realizar su búsqueda en aguas potables.

En algunos reportes, Watson y cols (1985) propusieron que los factores de virulencia de las especies de *Aeromonas* que producen infecciones intestinales son similares a la de otros patógenos entéricos; adherencia de las células bacterianas a la mucosa intestinal, producción de enterotoxinas e invasión de la mucosa intestinal.

La mayoría de las *A. sobria* y *A. hydrophila* producen una toxina similar a la del cólera (toxina Asao) que producen diarrea acuosa, por otra parte, *A. caviae* no produce enterotoxinas y que no es invasora, sin embargo esto es cuestionado en el trabajo de Fritsche y cols. quienes encontraron que esta especie es causante de gastroenteritis, por lo que consideran a esta especie como un patógeno humano.

Las infecciones ocasionadas por el género *Aeromonas* han sido reportadas principalmente en alimentos: productos cárnicos, mariscos, pescado, alimentos preparados, productos de pastelería, verduras, leche, derivados lácteos y en aguas (Castro - Escarpulli. 2002).

Recientemente, algunas especies de *Aeromonas* han emergido como un problema de salud pública para la población humana, tomando en consideración que éstos microorganismos se encuentran entre las principales causas de infecciones gastrointestinales en los países en vías de desarrollo por el consumo de agua contaminada (Castro - Escarpulli. 2002).

La presencia de bacterias oportunistas patógenas en agua para consumo está bien documentada, Slade y cols. (1996) reportaron que el 43% de las muestras de agua embotelladas analizadas contenían *A. hydrophila* y Warburton y cols. en 1994 demostraron que ésta bacteria puede sobrevivir y reproducirse en aguas a niveles de 10^5 UFC/100 mL en agua almacenada. Rusin y cols. (1997), determinaron el riesgo de colonización con *A. hydrophila* en individuos sanos con una exposición diaria de 38,000 organismos en dos litros de agua.

En México, los estudios para determinar la incidencia de *Aeromonas* son escasos, destacando los realizados por Rebollo y Escamilla(1984), éstos investigadores aislaron esta bacteria con una frecuencia del 7.7% en casos de diarrea aguda en niños menores de 2 años y un 7% en adultos, posteriormente por ellos mismos en la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, demostraron que el 5.7% de los aislamientos que procedían de niños menores de 5 años con diarrea de larga evolución pertenecían a *Aeromonas* (Rebollo B. y Escamilla A. E. 1984).

2. GENERALIDADES

2.1 CLASIFICACIÓN.

El género *Aeromonas* se encuentra ubicado en estudios recientes dentro de la familia *Aeromonadaceae*, este género incluye en la actualidad a 14 especies donde podemos encontrar: *A. salmonicida*, *A. caviae*, *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. veronii*, *A. trota*, *A. encheleia*, entre otras (Koneman W. y cols.1999). *A. salmonicida* es considerada patógena para los peces pero no para el humano se distingue en el grupo psicrófilo e inmóvil, en tanto que los géneros más comunes de *Aeromonas* consideradas patógenas para el humano se incluye a 3: *A. caviae*, *A. sobria*, *A. hydrophila* que son mesófilas, móviles por flagelos polares, bioquímica (MIO, LIA, TSI) y genéticamente relacionadas (Koneman W. y cols. 1999). Una especie más *A. veronii*, siendo el primero comúnmente asociado a cuadros diarreicos (Fernández E. 2000).

2.2 MORFOLOGÍA COLONIAL.

Las especies de *Aeromonas* son bacilos cortos con extremos redondos de 0.3-1.0 x 1.0-3.5 μm , formando filamentos hasta de 8 μm de longitud; móvil mediante un flagelo polar, generalmente monótrico. No todas las *Aeromonas* mesófilas son móviles. Hay evidencia de flagelos inactivos y de ausencia aparente de flagelos (Fernández E. 2000).

2.2.1 Diferenciación bioquímica.

Son bacterias Gram negativos, aerobios facultativos, oxidasa y catalasa positivos, fermentan glucosa, fructosa, maltosa y tetralosa, reducen nitrato a nitrito y fermentan la D-glucosa como fuente principal de carbono y energía, la producción de gas en el metabolismo de los azúcares es una propiedad variable (Manual técnico, SSA 1991).

Para hacer una identificación de *Aeromonas* y su diferenciación bioquímica entre *Pleisiomonas* y *Vibrio cholerae* se toman en cuenta las características de la tabla N° 1.

Prueba	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. sobria</i>	<i>A. caviae</i>	<i>Pleisiomonas</i>	<i>V. cholerae</i>
Medio	SS (IN)	SS (IN)	SS(IN)	SS(IN)	TCBS
Oxígeno	+	+	+	+	+
Arginina	+	+	+	+	-
Ornitina	-	-	-	+	+
Lisina	+	+	-	+	+
Manitol	+	+	+	-	+
Lactosa	V	-	-	-	-
Glucosa	+	+	+	+	+
H ₂ S	-	-	-	-	-
Gas	V	V	V	-	-
Vogges P	+	+	-	-	+

(+) = positiva, (-) = negativa, (V) = variable (Koneman W. y cols. 1999)

2.2.2 Crecimiento.

Las diferentes especies de *Aeromonas* pueden crecer en medios diferenciales y selectivos, las especies móviles tienen un rango de crecimiento entre 4 y 42 °C siendo la temperatura óptima de 28 °C, su desarrollo es muy lento, son tolerables a concentraciones de sal, siendo metabólicamente más activas a una concentraciones de 1% Na Cl, con un rango de pH de 4 a 10 (García C.1997).

2.2.3 Ecología.

El género *Aeromonas* se reconoce desde más de 100 años como patógenos de reptiles y de otros animales de sangre fría, en los años 70 son considerados enteropatógenos del hombre (Castro - Escarpulli.2002).

Aeromonas fue reportado por primera vez por Zimmerman en 1890 quien aisló el organismo a partir de agua de la llave y en 1891 Sandrelli la obtuvo en ranas, desde entonces ha sido aislada en gran variedad de animales y alimentos (González, Z.1994).

Estos microorganismos se encuentran ampliamente distribuidos en el medio ambiente al ser bacterias de gran ubicuidad. Se acepta en lo general, como residente común de ambientes acuáticos tales como: aguas salobres, estuarios marinos, manantiales, aguas de uso domestico tanto potables como no potables, libres de coliformes y las contaminadas aguas residuales municipales. La especie *A. caviae* tiende a ser más prevalente en aguas de mar (Fernández E. 2000).

Por otra parte, se han aislado en gran variedad de alimentos: productos marinos, carnes, vegetales frescos, quesos y leche cruda por lo que algunos autores consideran que *Aeromonas* debería incluirse en la lista de organismos que pueden actuar como agentes causantes de tox infecciones alimentarias (García C. 1997).

En nuestro país, la incorporación del género *Aeromonas* como indicador de calidad sanitaria en agua y alimentos ha sido ampliamente debatido, a pesar de que en otros países como Suecia ya es utilizado, las razones principales por lo que no lo aceptan es su carácter de patógeno oportunista y la carga de trabajo que su investigación representa. Sin embargo presenta una semejanza con la familia *Vibrionaceae*, esto puede permitir su aislamiento mediante la técnica oficial para *Vibrio cholerae* O1 (Chávez C. 1999).

2.2.4 Comportamiento epidemiológico.

En los últimos años se ha incrementado la atención sobre los miembros del género *Aeromonas* debido a que se le ha asociado con infecciones entéricas y septicemia en individuos con bajo sistema inmune o personas inmunodeprimidos (Center for food safety & applied nutrition 1991).

Este grupo de microorganismos esta implicado en procesos gastrointestinales, septicemias, meningitis, neumonías, endocarditis, úlceras de cornea, peritonitis, celulitis (Fernández E. 2000). Además, algunas especies de *Aeromonas* se han aislado en muestras de líquido cefalorraquídeo, sangre, orina, fluido peritoneal, músculo necrotico y huesos (González, Z.1994).

Los limitados estudios epidemiológicos disponibles sugieren que la incidencia de gastroenteritis a esta bacteria es mayor durante los meses calurosos, justo cuando se aísla a los niveles más elevados del medio acuático, un ejemplo, es en Australia, donde se observó un incremento en los niveles de *Aeromonas* en el agua, por lo que coincide, con una mayor incidencia de gastroenteritis asociada con *Aeromonas* durante el verano (Fernández E.2000).

Las enfermedades intestinales son una de las principales causas de muerte en México y las enfermedades diarreicas se encuentran entre las 20 principales causas de mortalidad en menores de cinco años, *Aeromonas* se ha encontrado como agente causal de diarrea en 3.7% a 10%, en donde la especie aislada con mayor frecuencia fue *A. caviae*. De acuerdo al boletín Semanal de Vigilancia Epidemiológica en Jalisco durante el 2002 se reportaron 540,154 casos de diarrea, en el 2003 se reportaron 276,776. Las enfermedades diarreicas por municipio en el año 2002 fueron en Guadalajara 166,029, Zapopan 48,741, Tonalá 16,335, Tlaquepaque 18,475, Tlajomulco 3,375 (Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica 2002).

2.2.3 Patogenicidad.

Los mecanismos estudiados de la patogenicidad de ésta bacteria, están preferentemente relacionados con la presentación de diarreas. Aunque se han realizado numerosos estudios para elucidar el, o los mecanismos de patogenicidad en las infecciones causadas por *Aeromonas* no se ha logrado la conciliación de los resultados para establecer dicho mecanismo de forma contundente (Castro - Escarpulli. 2002).

Se sabe que algunas especies de *Aeromonas* producen enterotoxinas, una termolábil (56°, 10 min.) y otra termoestable, sin que ello resuelva el potencial citotóxico en el humano. Sanyal y col. (1975) fueron los primeros en demostrar la formación de una enterotoxina utilizando la prueba de asa ligada en conejo.

La acumulación de líquido era similar a *V. cholerae* O1. Por su parte Shimada y col. en 1984, demostraron por primera vez la producción de una toxina semejante a la del cólera mediante aglutinación pasiva en látex y reacción de ELISA (Fernández E. 2000).

Sin embargo se han identificado un gran número de estructuras y enzimas extracelulares que parecen tener un papel importante en la patogenicidad de las infecciones intestinales y sistémicas (Castro - Escarpulli. 2002).

2.2.5.1 Factores asociados.

Algunos factores asociados a la virulencia se han identificado y caracterizado en estudios *in vivo* y *en vitro*, lo que a permitido conocer su función biológica y comparar la similitud genómica que pudieran existir con otros factores de virulencia descritos en otros agentes bacterianos.

Principales factores de virulencia:

- Cápsula: Algunos estudios han demostrado que *A. hydrophila* presenta la habilidad de producir cápsulas de polisacáridos mejorando la capacidad para adherirse a superficies, aunque se cuenta con poca información sobre su composición y su posible relación con patogenicidad, en trabajos preliminares en el ratón se reportado que las cepas no capsuladas son menos virulentas que las capsuladas. (Fernández E. 2000).
- Fosfolipasa: estas actúan como hidrolasas sobre los lípidos de la membrana, forman un papel importante en la virulencia en ratones ya que producen glicoceros fosfolipasas: acetiltransferasa colesterol que le causan lisis a los eritrocitos (Castro - Escarpulli. 2002)
- Proteasas: estos son capaces de degradar la albúmina, fibrina, gelatina y elastina y una misma capa puede producir diversas proteasas. Los dos tipos de proteasas son la metaloproteasas y serina, las que pueden causar daños tisulares invadiendo las defensas del huésped manteniendo infecciones en las heridas de humanos (Walter S.T 1999).

- Capa S: Propiedad patogénica en Gram (+) y Gram (-), son una adaptación de subunidades de proteínas o glicoproteínas tetragonales sobre las paredes celulares de la bacteria, se involucran en la unión de la bacterias a los componentes de la célula huésped y a la colonización de la mucosa intestinal, hace a estos microorganismos menos susceptibles a la osonofagocitosis (septicemias). (Castro - Escapulli. 2002)
- Lipopolisacáridos (LPS): se reconocen al menos 97 serogrupos distintos entre las *Aeromonas*. (Fernández E. 2000).
- Fimbrias: algunos géneros de *Aeromonas* como es el caso de *A. hydrophila* presenta fimbrias no filamentosas, al igual que *A. caviae* y *A. veronni*, presentan el pili tipo: IV, describiéndose que la adhesión medidas por estos favorecen el proceso de colonización de estas bacterias.
- Proteínas de la membrana externa (OMP): la caracterización de la OMP es limitada la purificación y caracterización parcial de estas revela tres diferentes proteínas y se esta investigando la posibilidad de que algunas tengan propiedades formadoras de canales (Walter S.T 1999).
- Sideróforos: son mecanismos eficientes para obtener el hierro del huésped que son sintetizados bajo condiciones de estrés por las bacterias, para competir cuando se encuentra en concertación limitada, *A. hydrophila* sintetiza: enterobactin o amonabactin (Castro - Escapulli. 2002).
- Hemolisinas: la caracterización de la hemolisinas se ha dificultado por la terminología múltiple con lo que han sido descritas por los distintos autores, la hemolisina denominada aerolisina se caracteriza por la formación de poros en la membrana de las células huésped (efecto citolítico) y por producir acumulación de fluidos en diversos modelos animales, por lo que se asocia con la producción de cuadros de gastroenteritis (Fernández E. 2000).
- Enterotoxinas citotónicas: se ha encontrado en *A. hydrophila* 2 tipos de enterotoxinas citotónicas: la primera es termolábil (56° durante 10 min.) causando el aumento de secreción en ratones y la termoestable

(100° por 30 min.) causando acumulación de fluidos en ratas y reaccionan con toxinas anticólera (García C. 1997).

Las *Aeromonas* también producen una gran cantidad de enzimas que degradan ampliamente complejos proteicos, polisacáridos, mucopolisacáridos y moléculas que contienen lípidos. Estas enzimas son útiles en la identificación de la bacteria y son considerados factores asociados a la virulencia (Fernández E. (2000) y Castro - Escarpulli. (2002).

2.2.6 Fisiología de la diarrea.

2.2.6.1 Diarrea.

Es la presencia de evacuaciones líquidas o disminución de las heces, asociados con un aumento de frecuencia (>3 evacuaciones /día) (Mundo Fernando S. 1999).

La diarrea asociada con *Aeromonas* es autolimitante y normalmente no requiere tratamiento con antibióticos.

Janda y Duffey (1988) describieron cinco tipos de diarrea relacionada con *Aeromonas*:

Secretora (Diarrea acuosa con vomito)

Disentérica (Diarrea que es acompañada de moco y sangre)

Crónica (Diarrea que dura más de 10 días)

Colérica (Diarrea con aspecto de agua de arroz)

Diarrea del viajero.

Aunque bajo circunstancias normales el intestino delgado y colon actúan como órganos de absorción, existen flujos normales simultáneos tanto de la luz intestinal al torrente sanguíneo (absorción) como de la sangre al lumen (secreción). La secreción se realiza en las criptas del intestino delgado y colon y la absorción en las vellosidades intestinales y en la superficie del colon. La mayoría de las diarreas se deben a una combinación de la disminución de la absorción y aumento en la secreción.

2.2.6.2 *Aeromonas* como agente causal de diarrea.

Las especies de *Aeromonas* comúnmente más asociadas con gastroenteritis son *A. hydrophila* y *A. sobria* a quienes les han atribuido dos tipos de gastroenteritis: la primera y la más común que es muy parecida al cólera caracterizada por heces líquidas y fiebre ligera: en niños menores de 2 años puede haber vómito y en adultos dolor abdominal, la duración de la enfermedad llega a extenderse por más de 10 días, el segundo tipo es cuando se manifiesta similar a la disentería caracterizada por diarrea con presencia de moco y sangre, aproximadamente una cuarta parte de las gastroenteritis son asociadas con el segundo tipo, pero se conocen casos de infección grave con amenaza de muerte en ambas formas del padecimiento (García Carrillo (1997) y Fernández E.(2000).

En niños las *A. caviae* producen diarreas con mayor frecuencia entre el primero y décimo primer mes de vida postnatal, afecta también a niños entre 12 y 35 meses de edad, después de los tres años de vida postnatal, y en adulto las *Aeromonas* constituyen una causa menos habitual de cuadros diarreicos (González, Z.1994).

A las *Aeromonas* se le atribuye el tipo de diarrea secretora que es causada por un transporte anormal de iones en las células epiteliales intestinales. Se presenta cuando la secreción acumulada de agua y de electrolitos en el intestino delgado excede a la absorción, ya sea por favorecer la secreción (Mundo Fernando S. 1999).

2.2.7 Tratamiento.

Las *Aeromonas* producen metalobetalactamasas (grupo 3), betalactamasas que hidrolizan cefalosporinas, por lo tanto, son resistentes a antibióticos betalactámicos como la penicilina, ampicilina y cefalotina.

Los estudios realizados en México en agua y pescado mostraron que la mayoría de las cepas eran sensibles a cefalosporinas de segunda y tercera generación, así como a las quinolonas, presentando resistencia variable a los aminoglucosidos y a los macrólidos.

Esto evidencia que las cefalosporinas y las quinolonas pueden utilizarse de forma segura como tratamiento por las infecciones causadas por las *Aeromonas*.

Los cuadros diarreicos en individuos son autolimitantes y se curan en pocos días con dieta y rehidratación oral en niños (Castro - Escarpulli. 2002).

2.2.8 Vías de transmisión.

El consumo de agua y/o alimentos contaminados, así como el contacto directo del agua con heridas, ha sido consideradas las fuentes de infecciones cutáneas y gastrointestinales por *Aeromonas* (Chiston J., Hurst y cols. 2002).

A pesar de las evidencias de que son las *Aeromonas* el vínculo de trasmisión de las infecciones gastrointestinales, son pocos los brotes alimentarios documentados (Center for food safety & applied nutrition 1991).

La concentración de estos microorganismos varía en las estaciones del año, donde se ha obtenido mayor frecuencia es en verano y en esta época es reportado el mayor índice de cuadros diarreicos, apoyando así la hipótesis de que el agua y los alimentos son los principales canales de transmisión (Castro - Escarpulli. 2002).

Boyer (1987) afirma que el consumo de agua no tratada es un factor de riesgo significativo con esta bacteria en EUA, ya que el manejo de los riesgos a la salud con respecto al consumo de agua involucra el tratamiento y la eliminación adecuada de aguas residuales, protección de las cuencas de origen, tratamiento del agua potable y distribución segura, además, los brotes de enfermedades han sido ligados al agua potable que ha llenado todos los requisitos de tratamiento y las normas de tratamiento (Reynolds A. K. 2001).

Otro factor importante es el almacenamiento del agua, donde en estos depósitos se ha encontrado una gran variedad de bacterias entre ellas *Aeromonas* donde su crecimiento es estimulado por las temperaturas calidad del agua y largos tiempos de almacenamiento en tanques y la nitrificación incompleta causada por estos microorganismos no afecta el sabor y olor pero si provocan la perdida rápida del cloro residual y esta agua es la que se distribuye al servicio de la sociedad. (Castro - Escarpulli. (2002) y Chaidez Q. C. 2002).

3. JUSTIFICACIÓN

Entre las enfermedades transmitidas por el agua, el grupo de las diarreas es la causa principal de la morbilidad y mortandad infantil en los países en vías de desarrollo, el género *Aeromonas*, considerado autóctono del medio acuático, se encuentran en habitats ampliamente diseminados. Un hecho de trascendencia es que este género se ha aislado en aguas potables cloradas e incluso en aguas embotelladas. (Chaidez Q.C. 2002)

Existe una alta incidencia de enfermedades transmitidas por agua contaminada, la mayoría de los sistemas de potabilización del agua son capaces de reducir la concentración de *Aeromonas* y coliformes fecales; no obstante, cuando los niveles de materia orgánica aumentan, se inactivan los niveles de cloro y estas bacterias pueden crecer e incluso invadir los sistemas de abastecimiento formando biofilms, alcanzando así altas concentraciones.

Los coliformes fecales según la NOM-127-SSA1-1994. "Salud Ambiental, agua para uso y consumo humano, límites permisibles de calidad y tratamiento a que se debe someterse el agua para su potabilización" son indicadores de contaminación fecal y se utilizan para evaluar la calidad sanitaria del agua y poder determinar su potabilidad a fin de estar apta para el consumo humano. Las *Aeromonas* se han aislado en aguas en las que no se ha detectado coliformes; mostrando la no correlación con éstos indicadores. Por las referencias de caso de diarrea donde el agente etiológico se relaciono con *Aeromonas* despertó el interés en el Laboratorio de Microbiología Médica del Centro Estatal de Laboratorios, por lo que en este trabajo proponemos considerar a las *Aeromonas* como un indicador del funcionamiento del sistema de tratamiento y potabilización del agua.

Por lo tanto, la identificación de especies de *Aeromonas* en aguas de la llave de la red municipal puede tener un valor diagnóstico y significativo, así mismo, prevenir oportunamente las infecciones gastrointestinales ocasionadas por este género.

4. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Conocer la incidencia de *Aeromonas* en las muestras de agua potable de la zona conurbada de Guadalajara que ingresaron al CEESLAB de la Secretaría de Salud Jalisco, en el periodo de Octubre 2003 a Abril 2004.

OBJETIVOS PARTICULARES:

1.-Estandarizar la técnica de identificación de *Aeromonas* en aguas blancas, modificación de la técnica de *V. cholerae* O1.

2.-Determinar la calidad microbiológica del agua potable utilizando como parámetro de calidad la presencia de *Aeromonas en el agua* de los diferentes municipios que conforman la zona conurbada de Guadalajara que ingresan al CEESLAB.

3.-Reconocer el análisis microbiológico de *Aeromonas* como indicador de calidad de agua en la red distribución del agua potable.

4.- Evaluar la frecuencia de los distintos géneros y especies de *Aeromonas* en el agua potable.

5. HIPOTESIS

La presencia de *Aeromonas* en agua para uso y consumo humano representa problemas para la salud, por lo tanto, su hallazgo podrá indicar una deficiente calidad microbiológica del agua potable del sistema de distribución del agua en los municipios que conforman la zona conurbada de Guadalajara.

6. MATERIAL Y METODOS

En la dirección de regulación sanitaria se elaboraron periódicamente programas para el muestreo de agua de la llave como vigilancia sanitaria, así como la verificación de los resultados de laboratorio de las muestras que estuvieron fuera de los límites permisibles.

Con las muestras que ingresaron al Centro Estatal de Laboratorios (CEESLAB) de la Secretaría de Salud Jalisco, durante el periodo de Octubre del 2003 a Abril del 2004, el objetivo método de estudio fue Analítico retrospectivo de corte trasversal para analizar la presencia de *Aeromonas* en 133 muestras de agua potable tomadas de la llave (mediante la técnica del hisopo de Spira) de los municipios que conforman la zona conurbada de Guadalajara (de las Regiones Sanitarias X, XI, XII y XIII : Guadalajara, Zapopan, Tlaquepaque, Tonalá y Tlajomulco).

El análisis para aislar *Aeromonas* se realizó con una modificación a la técnica y procedimiento de laboratorio para la investigación de *Vibrio cholerae* O1 de muestras de aguas blancas, aguas negras y de alimentos basada en el Manual técnico del Instituto Nacional de Diagnostico y Referencia Epidemiológica (INDRE) Secretaria de Salud. México. DF. 1991. (Según NOM-031-SSA1-1993 y NOM-016-SSA2-1994).

6.1 PROCESO PARA LA TOMA DE MUESTRA EN AGUAS POTABLES

La técnica del hisopo de Spira fue utilizada por el verificador sanitario para la toma de muestra de agua de la llave y se realizó de la siguiente manera:

- 1.- Preparo el hisopo de Spira para la toma de muestra.
- 2.-Retiro la envoltura de plástico para desprender la cubierta de aluminio que contiene el hisopo de Spira.
- 3.-Limpio la salida de la llave con cloro al 0.2 % para eliminar contaminación.
- 4.- Se dejo correr el agua de la llave por 10 seg.
- 5.-Posteriormente se coloco el hisopo de Spira en el chorro de agua para filtrar por lo menos 3 litros de agua.
- 6.-Una vez filtrada la cantidad de muestra que se requería se paso con cuidado el hisopo de Spira a un frasco con capacidad de 1,000 mL que contenía 500 mL de agua peptonada alcalina de pH 9.0.
- 7.-Etiqueto el frasco con la muestras con los siguientes datos: tipo de muestra, sitio de muestreo, fecha, hora y nombre de la persona que realizo el muestreo y se envió la muestra a temperatura ambiente al laboratorio para su análisis dentro de los límites permisibles de la NOM-016-SSA2-1994.
- 8.-Al recibir la muestra en el Centro Estatal de laboratorios se verificó que se encontrará debidamente etiquetado con los datos antes mencionados.
- 9.-En el área de recepción de muestras fue recibida y se le asigno un número de registro.
- 10.-Se lleno un formato de solicitud de análisis de laboratorio.
- 11.-Una vez la muestra en el laboratorio de microbiología médica, se realizó un nuevo registro para el control de la muestra.

6.2 PROCEDIMIENTO DE ANALISIS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA.

1.-Se midió el pH de las muestras, mediante la utilización de un potenciómetro y se ajustó a un pH de 8.6 ± 0.2 utilizando ácido clorhídrico al 50 % e hidróxido de sodio al 50%.

2.-Posteriormente se incubaron las muestras a 35°C de 18 – 24 hrs.

3.-Después de la incubación y sin agitar los frascos, se tomó de la superficie con un hisopo de algodón esteril las muestra de agua y se resembró por estría cruzada el inoculo en un placa de agar *Salmonella- Shigella* (SS) se incubó a 35°C por 24 hrs.

4.-Se seleccionó una colonia típica de acuerdo a morfología colonial y se resembró en agar soya tripticasa (AST) para obtener una siembra masiva (biomasa) y se incubaron a 35°C por 5 hrs.

6.-Se realizó la prueba de citrocromo oxidasa para seleccionar las muestras de *Aeromonas* positivas:

- oxidasa negativa se descartó la muestra para este estudio
- oxidasa positiva se procedió su identificación bioquímica

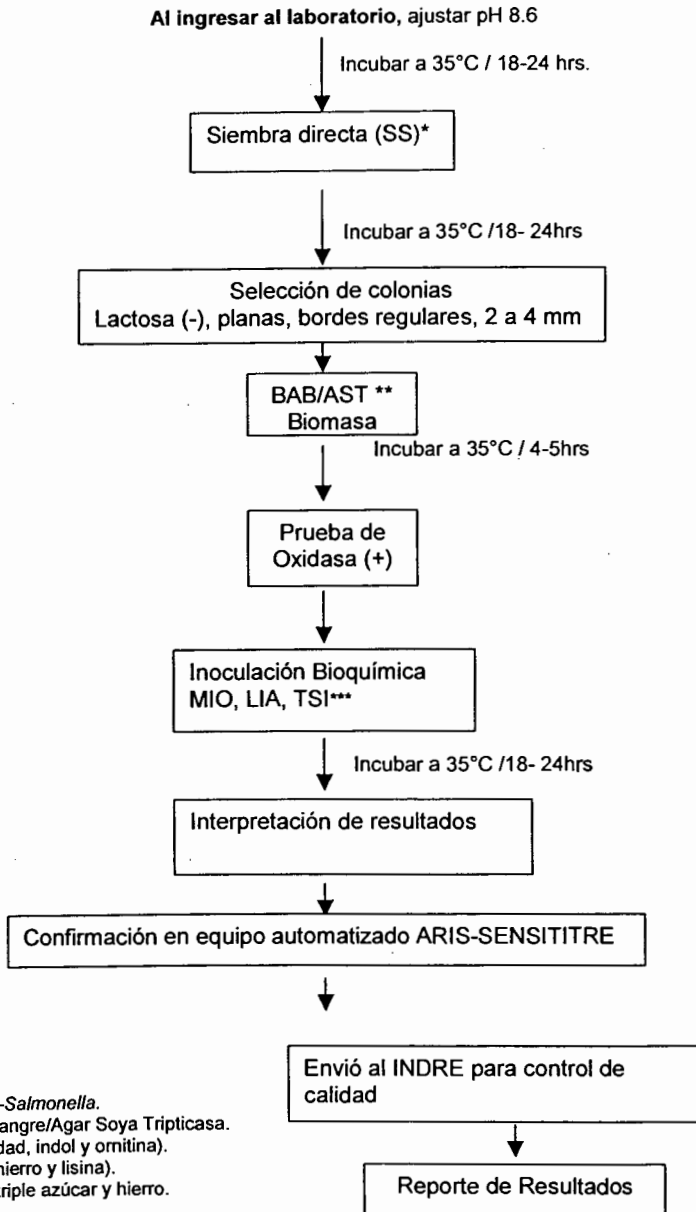
7.- Se inocularon las pruebas bioquímicas de MIO, LIA, TSI e incubaron a 37°C por 24 hrs.

8.-Se interpretaron los resultados bioquímicos de acuerdo a diagnostico microbiológico de diferenciación de especies importantes de *Aeromonas*, posterior a una confirmación en el equipo sistematizado ARIS-Sensititre donde la cepa fue diluida a una concentración especifica a través de un necelometro y es inoculada en paneles liofilizados donde se incubo 24hrs a 37°C y después en base a la colorimetría hace la lectura 32 bioquímicas.

10.-Toda la cepa confirmada se envió al Instituto Nacional de Referencia Epidemiológica para control de calidad.

6.3 DIAGRAMA DE FLUJO

Hisopo de Spira (tomada por el verificador sanitario)



*Agar *Shigella-Salmonella*.

**Agar Base Sangre/Agar Soya Tripticasa.

***MIO (movilidad, indol y ornitina).

LIA (Agar de hierro y lisina).

TSI (Agar de triple azúcar y hierro).

6.4.- LOS CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN PARA LOS MUESTREOS SON LOS SIGUIENTES:

6.4.1 DE INCLUSIÓN.

- 1.-Las muestras tomadas con la técnica del hisopo de Spira y proceden de agua de llave.
- 2.-Cuenten con el formato de registro de datos de muestra.
- 3.-La muestra cuente con los mismos datos que el formato de registro.
- 4.-Se envíen en las condiciones adecuadas al laboratorio.

6.4.2 DE EXCLUSIÓN.

- 1.-Las muestras tomadas fuera de los municipios establecidos.
- 2.-Técnica de muestreo inadecuada.
- 3.-Datos incongruentes en el formato y en la muestra.
- 4.-Las que se envíen al laboratorio después de 6 horas de tomada la muestra.

7. RESULTADOS

Durante el estudio ingresaron al CEESLAB 133 muestras de agua de la llave, en el transcurso de Octubre a Abril del 2004, de las cuales, a las muestras con aislamientos de bacterias se les realizó la prueba de citocromo oxidasa (oxidasa negativa, se descarto la muestra).

De las 133 muestras que ingresaron al laboratorio solamente se tomaron para este estudio los aislamientos oxidasa positiva, resultando 41 muestras con aislamientos positivos de *Aeromonas*, obteniendo una frecuencia de (30.8%) contra 92 muestras con aislamientos negativos a *Aeromonas* (69.1 %) observar figura No 1.

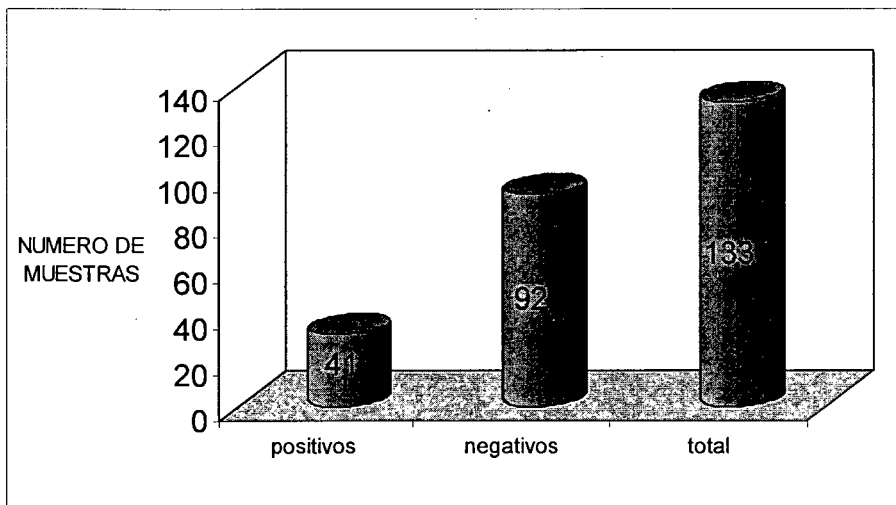


Fig.1 Número de muestras positivas y negativas a *Aeromonas* y totales que ingresaron al CEESLAB

Las muestras de agua potable procedentes de las regiones sanitarias X, XI, XII y XII de la Secretaria de Salud Jalisco, las cuales se dividieron por los municipios que conforman la zona conurbada de Guadalajara quedando de la siguiente manera:

De los municipios de Guadalajara ingresaron un total de 48 muestras, de Zapopan fueron 36 muestras, Tlajomulco: 15, Tonalá: 3 y Tlaquepaque se obtuvieron 31 muestras, como se observa en la figura No 2.

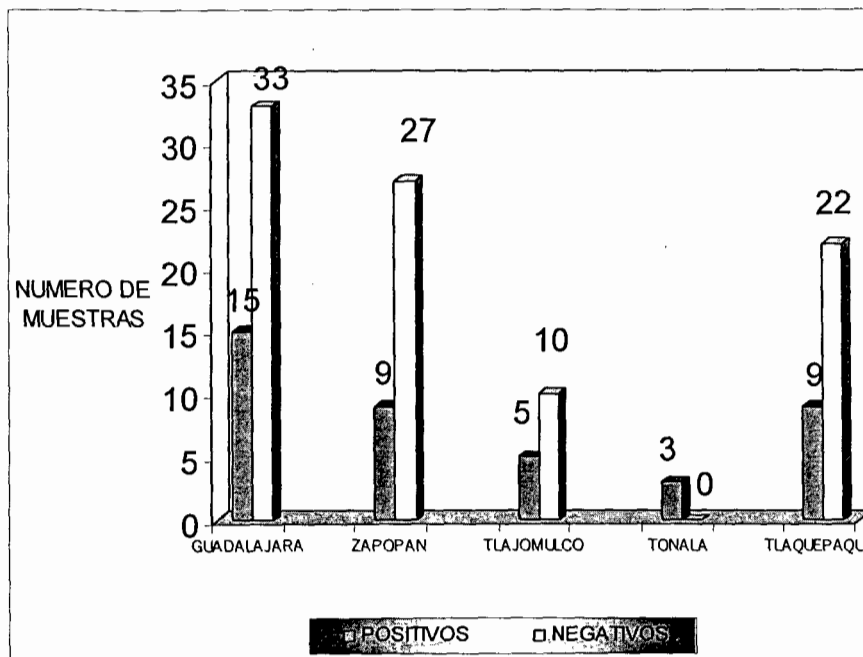


Fig.2 Número de muestras positivas y negativas según el municipio.

Frecuencia de positivos y de negativos en cada municipio.

	Positivos	Negativos
Guadalajara	31.2%	68.7%
Zapopan	25.0%	75.0%
Tlajomulco	33.3%	66.6%
Tonalá	100%	00.0%
Tlaquepaque	29.0%	70.9%

De las 41 muestras que fueron oxidasas positivas se identificaron 3 especies de *Aeromonas* diferentes: *A. caviae* (31), *A. sobria* (6) y *A. hydrophila* (4). Ver figura No 3.

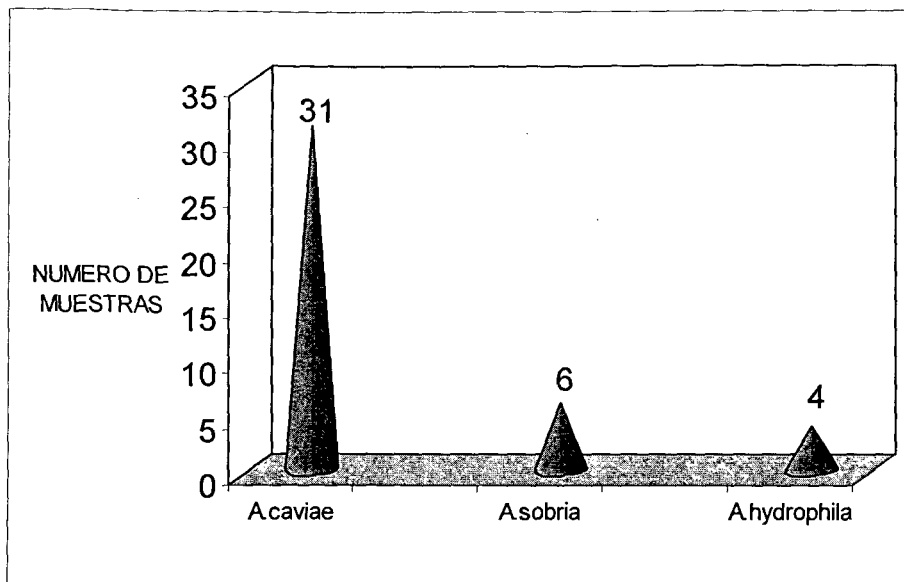


Fig. 3 Número de muestras positivas por especie.

Se observó una frecuencia: *Aeromonas caviae* 75.6 %
Aeromonas sobria 14.6 %
Aeromonas hydrophila 9.75 %

Se determino la frecuencia de las cepas encontradas por género y especie en el agua potable de las muestras que ingresaron al laboratorio de los distintos municipios, mostrando la frecuencia de *Aeromonas* donde se observó una mayor incidencia de *A. caviae*, seguida de *A. sobria* y *A. hydrophila*. Como se muestra en la tabla 2 y figura 4.

Tabla No.2

MUNICIPIO	A. <i>caviae</i>	A. <i>hydrophila</i>	A. <i>sobria</i>
Guadalajara	66.6%	21.4%	13.3%
Zapopan	55.5%	33.3%	11.1%
Tlajomulco	80%	20%	0.0%
Tonalá	100%	0.0%	0.0%
Tlaquepaque	100%	0.0%	0.0%

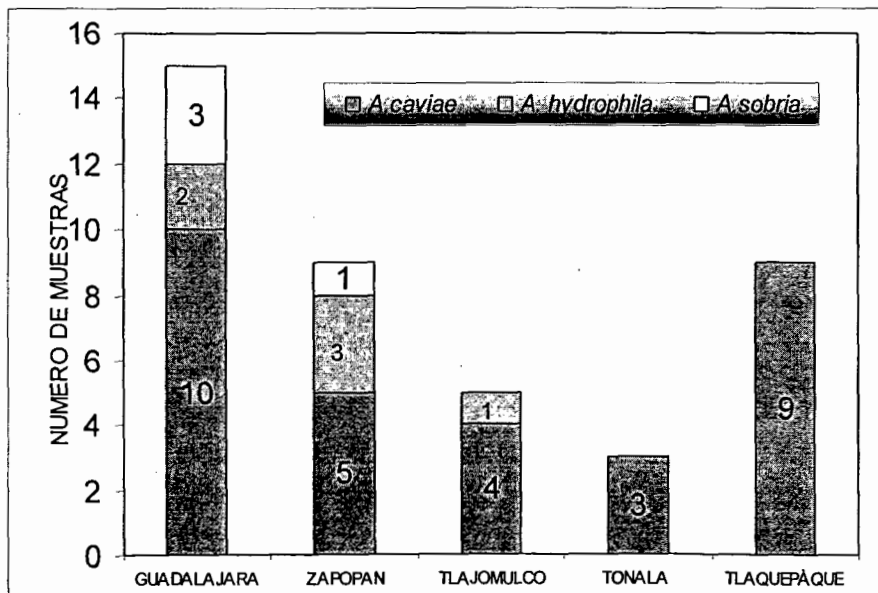


Fig. 4 Número de especies positivas por municipio

En resumen, las muestras recibidas mostraron frecuencias considerables de aislamientos de *Aeromonas* de las diferentes especies, a partir de las muestras obtenidas de todos los municipios en estudio, como lo muestra la tabla N° 3.

Tabla No. 3 Frecuencias de muestras Positivas y Negativas.

Municipio	Total de muestras que ingresaron al CEESLAB	Aislamientos Positivos a <i>Aeromonas</i>	Frecuencia	Aislamientos Negativos a <i>Aeromonas</i>	Frecuencia
Guadalajara	48	15	31.25%	33	68.75%
Zapopan	36	9	25.00%	27	75.00%
Tlajomulco	15	5	33.33%	10	66.67%
Tonalá	3	3	100.0%	0	00.00%
Tlaquepaque	31	9	29.03%	22	70.97%

8. DISCUSIÓN

El género *Aeromonas* estaba clasificado como miembro de la familia *Vibrionaceae* al cual pertenece *Vibrio cholerae* O1, actualmente pertenece a la familia *Aeromonadaceae* y es considerado un agente enteropatógeno que ocasiona procesos diarreicos en humanos, dichas infecciones son transmitidas principalmente por el consumo de alimentos: productos cárnicos, mariscos, pescado, alimentos preparados, verduras, leche, derivados lácteos y en aguas (Castro E. 2002). Un hecho de trascendencia es que se ha aislado este género en aguas potables cloradas e incluso en aguas embotelladas hasta en un 43%.

La mayoría de las técnicas reportadas han sido enfocadas al género *Vibrio cholerae* O1, en el presente estudio se realizó una modificación de la técnica antes mencionada por la relación entre estos géneros, debido a la necesidad de aislar e identificar *Aeromonas* en el agua potable de los municipios que conforman la zona conurbada de Guadalajara, para poder considerar a las *Aeromonas* como un indicador de contaminación en sistemas de tratamiento y potabilización de agua y así proporcionar un indicador oportuno para evitar infecciones gastrointestinales ocasionadas por este género.

Mediante la modificación de la técnica de *Vibrio cholerae* O1 se aisló e identificó la presencia de *Aeromonas*, al presentar una semejanza en su comportamiento bioquímico la única modificación consistió en usar agar *Salmonella - Shigella* (SS) para aislar *Aeromonas*, en lugar de agar TCBS (tiosulfato, citrato, bilis, sacarosa) para *Vibrio cholerae* O1, siendo de esta manera el mismo procedimiento, mismo juego de bioquímicas (MIO, LIA, TSI) y el mismo gasto para ambos aislamientos, esta modificación de la técnica de *Vibrio cholerae* O1 coincide con otros autores (Chávez C. 1999).

Una vez estandarizadas las condiciones experimentales se determinó en este estudio la frecuencia de *Aeromonas* en agua potable de la zona metropolitana de Guadalajara la cual fue del 30.8%, sin embargo en la misma ciudad otras investigaciones reportaron el 50% (García C. 1997). por lo tanto podemos inferir

que son resistentes al proceso de cloración y a los tratamientos de agua potable de la red metropolitana.

De las cinco regiones sanitarias de la zona conurbada de Guadalajara que presentaron aislamiento e identificación del género *Aeromonas*, mostrando una relación a la frecuencia de especies en estos municipios con la incidencia más alta de *A. caviae* con el 75.6% seguida de *A. sobria* 14.6% y por último *A. hydrophila* con 9.7%.

Los resultados encontrados de la incidencia de *A. caviae* concuerdan con los estudios realizados en el estado de Hidalgo que obtuvieron la mayor incidencia de *A. caviae* con 42.6% en segundo lugar *A. hydrophila* 36.8 % y por último *A. sobria* 19.1%. (García C. 1997).

Sin embargo en el Estado de México, la incidencia fue *A. caviae* ocupa el tercer lugar con el 17% y la especie *A. sobria* con la mayor incidencia 31% seguida de *A. hydrophila* 29%. (Castro E. 2002).

Por lo que podemos concluir que las enfermedades transmitidas por el agua, el grupo de las diarreas puede ser desarrollada por el género *Aeromonas*, debido a la frecuencia presentada en las muestras de agua potable para uso y consumo humano lo cual representa un problema para la salud.

En base a lo anterior y a su gran importancia clínica y epidemiológica se debe de reconocer el hallazgo de este género como un indicador de calidad sanitaria de agua potable del sistema de distribución del agua que conforman la zona conurbada de Guadalajara, lo cual es sugerido por otros autores que la utilización de la modificación de la técnica para *Vibrio cholerae* O1 para aislar e identificar *Aeromonas* (Chávez C. 1999) y así poder prevenir oportunamente dichas infecciones.

9. CONCLUSIONES

1.-Mediante la modificación de la técnica de *Vibrio cholerae* O1 basada en la norma NOM-031-SSA1-1993 y NOM-016-SSA2-1994 se pudo aislar e identificar *Aeromonas* en el agua de la llave.

2.-Mediante este estudio se pudo determinar la presencia de *Aeromonas* en la red de agua potable de los municipios de Guadalajara, Zapopan, Tlaquepaque, Tonalá y Tlajomulco.

3.- Debido a su importancia clínica y epidemiológica se propone que se debe reconocer como indicador de calidad sanitaria el hallazgo de *Aeromonas* en la red municipal.

4.-La presencia de *Aeromonas* en el sistema de agua potable nos hace inferir que son resistentes al proceso normalmente aplicado para el tratamiento de agua potable de la red municipal.

5.- La frecuencia del 30.8% de aislamientos positivos en este estudio implica un riesgo en la salud de la población.

10. RECOMENDACIÓN

En base a los resultados de este estudio se propone analizar la concentración de cloro residual en agua de llave, lo cual ayudaría a conocer la concentración adecuada de cloro para eliminar el problema de las *Aeromonas* en la potabilización del agua municipal

10. BIBLIOGRAFIA

- 1.-Aguiar P.H., Rodríguez de Sola y Crespo .M (1998) Agua y salud: 3(2) pp18-21.
- 2.-Brooks F.G., Batel S.J., Ornston N (1990) Microbiología médica. Ed El manual moderno. México DF; p 359.
- 3.-Burdon /William (1983) Microbiología. Ed. Publicaciones culturales. México DF; pp.222-223.
- 4.-Castro del campo N. y Chaidez Q.C (2003), Riesgo microbiológicos del almacenamiento de agua potable en tinacos: 3(3).
- 5.-Castro – Escarpulli y cols (2002) El género *Aeromonas* ¿Un patógeno importante en México?,22(4):206-216. [http:// www.mediographic.com/espanol/e-htnte](http://www.mediographic.com/espanol/e-htnte).
- 6.-Center for Food Safety & Applied Nutrition: (1991) Foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins hadbook. Bad bug book. www.cfsan.fda.gov/mow/intro.html.
- 7.-Colwell RR, Mac Donell MT. Deley J. (1986) Proposal to recognize the family *Aeromonadaceae* fam .nor. Int Jsyst Bacteriol; 36: 473-7.
- 8.-Chaidez Q.C. (2002) Agua embotellada y su calidad bacteriológica: 2(5).
- 9.-Chávez Celia (1999). Frecuencia de *Aeromonas sp* y *Escherichia coli* en cócteles de fruta en venta directa al publico de la ciudad de Guadalajara. Tesis de licenciatura de la Facultad de Ciencias Exactas e Ingenierías, Universidad de Guadalajara. México.
- 10.-Chiston J., Hurst y cols. (2002) Manual of environmental microbiology. 2da Edition, Washington, D.C; pp.208-212.

11.-Dr .Mundo Fernando S. (1999) Diarrea infecciosa aguda y crónica: abordaje clínico. Bayer.

12.-Fernández E. (2000) Microbiología e inocuidad de los alimentos. Universidad autónoma de Querétaro; pp.134-137.

13.-Fritsche D, Dahn R, Hoffmann G. 1975 *Aeromonas punctata* subsp. *caviae* as the causative agent of acute gastroenteritis Oct;233(2):232-5. PMID: 175615 PubMed - indexed for MEDLINE

14.-García C. (1997). Determinación de *Aeromonas* sp. en jugo de naranja fresco. Tesis de licenciatura de la Facultad de Ciencias Exactas e Ingenierías, Universidad de Guadalajara, México.

15.-García R. y cols. (1999) Metodología de la investigación en salud. Ed Mc Graw Hill interamericana 1ra Edición.

16.-González, Z. (1994). Riesgo potable para la salud publica de *Aeromonas hydrophila* en agua potable de la red municipal en la zona metropolitana de Guadalajara. Tesis de licenciatura de la Facultad de Ciencias Exactas e Ingenierías, Universidad de Guadalajara, México

17.-Harrigan W. F. (1999) Laboratory Methods in food microbiology. Ed academipress, 3era edition; pp.205-206.

18.-Janda., J.M, Duffey., P.S (1988). Mesophilic *Aeromonads* in human disease:current taxonomy,laboratory identification, and infectious disease spectrum. *Reviews in infectious*, 10:980-987.

19.-Koneman W. y cols (1999) Diagnostico Microbiológico, Ed. Panamericana 5 edición; p 322-323.

20.-Manual técnico. Identificación de *V. cholerae*. (1991) Instituto Nacional de Diagnostico y Referencia Epidemiológica. Secretaria de Salud. México. DF.

21.-Modificación a la Norma oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994. Salud Ambiental. Agua para uso y consumo humano, limites permisibles de calidad y tratamiento a que se debe someterse el agua para su potabilización.

22.-Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA1-1993. Requisitos sanitarios que deben cumplir los sistemas de abastecimiento de agua para uso y consumo humano públicos y privados.

23.-Norma oficial mexicana NOM-014-SSA1-1993. Procedimientos sanitarios para el muestreo de agua para uso y consumo humano en sistemas de abastecimientos de agua públicos y privados.

24.-Norma Oficial Mexicana NOM-016-SSA2-1994, Para la Vigilancia, Prevención, Control, Manejo y Tratamiento del cólera.

25.-Norma Oficial Mexicana NOM-031-SSA1-1993. Bienes y Servicios. Productos de la pesca. Moluscos Bivalvos frescos-refrigerados y congelados. Especificaciones Sanitarias.

26.-Paludo S., Stelma G., Abeyata C, (1992) *Aeromonas hydrophila* group. American public health association (APHA). Washington: pp.497-507.

27.-Pelczar J., Reid R., Chan E., (1988) Microbiología. Ed. Mc Graw Hill interamericana, México; pp. 681-682.

28.-Popoff M. Genus III. *Aeromonas* Kluver and van Niel. (1936), in: Krieg N R and Holt dG, eds. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Baltimore: Williams & Wilkins Co.1984:545-8.

29.-Prescott M. Harley J, Klein A. (2000) Microbiología, Ed. Mc Graw Hill, 4ta Edición; pp. 909-913.

30.-Rebollo B, Escamilla AE. (1984) Aislamiento e identificación de *Aeromonas* spp y *Pleisiomonas shigelloides* como causa de diarrea en humanos. INNSZ. Memorias Congreso Nacional Mexicano. Veracruz.

31.-Reynolds A.K (2001). Introducción a las enfermedades microbianas propagadas a través del agua contaminada: 1(2).pp. 10-13. Agua latinoamericana [http:// www.agualatinoamericana.com/does/does/pdf](http://www.agualatinoamericana.com/does/does/pdf)

32.-Rusin, P.A., J.B. Rose, C.H. Hass y C.P. Gerba, (1997) "Risk assessment of opportunistic bacterial pathogens in drinking water ", Review of Environmental Contamination and Toxicology, 152, 57-83.

33.- Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Guadalajara Jalisco, Secretaria de Salud. (2002) Enfermedades Diarreicas. Boletín Semanal Vigilancia Epidemiológica.

34.-Slade, P.J., M.A. Falan y A.M.R. Al-Ghady, (1996) "Isolation of *Aeromonas hydrophila* from bottled waters and domestic water supplies in Saudi Arabia" Journal of food Protection, 49:471-476.

35.-Walter S.T (1999) Microbiología, Ed .Mc Graw Hill interamericana, 1ra Edición México; pp. 222-223.

36.-Warburton, D.W., J.K. McCormick y B. Bowen (1994) "Survival and recovery of *Aeromonas hydrophila* in water: development and methodology for testing bottled water in Canada", Canadian Journal of Microbiology, 40, 145-148.

37.-Watson JM. (1985) Invasiveness of *Aeromonas spp.* in relation to biotype, virulence factors and clinical features. J Clin Microbiology; 22:48-51.