

## Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 50, No 2 (1999)



### Aeromonas hydrophila, A human pathogen

A. ABRAHIM (Α. ΑΜΠΡΑΧΙΜ), Κ. PAPANOTAS (Κ. ΠΑΠΑΝΩΤΑΣ)

doi: [10.12681/jhvms.15701](https://doi.org/10.12681/jhvms.15701)

Copyright © 2018, A ABRAHIM, K PAPANOTAS



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

### To cite this article:

ABRAHIM (Α. ΑΜΠΡΑΧΙΜ) Α., & PAPANOTAS (Κ. ΠΑΠΑΝΩΤΑΣ) Κ. (2018). Aeromonas hydrophila, A human pathogen. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 50(2), 91-99. <https://doi.org/10.12681/jhvms.15701>

***Aeromonas hydrophila* - Ένας παθογόνος μικροοργανισμός του ανθρώπου**Α. Αμπραχίμ<sup>1</sup>, Κ. Παπανώτας<sup>2</sup>

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ.** Η *Aeromonas hydrophila* είναι παθογόνος μικροοργανισμός για τον άνθρωπο και ενοχοποιείται για την πρόκληση γαστρεντεριτιδών, μόλυνση τραυμάτων και σηψαιμία. Επίσης είναι παθογόνος μικροοργανισμός για τα ψάρια, τα αμφίβια και τα ερπετά. Η *A. hydrophila* έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται σε τρόφιμα που συντηρήθηκαν στην ψύξη και έχει απομονωθεί από το περιβάλλον, το χλωριωμένο και μη πόσιμο νερό, τα έτοιμα φαγητά, το κρέας των θηλαστικών, το κρέας των πουλερικών, τα αλιεύματα, το παστεριωμένο γάλα και άλλα γαλακτοκομικά προϊόντα καθώς και από τρόφιμα φυτικής προέλευσης. Η εργασία αυτή είναι μια βιβλιογραφική ανασκόπηση της οικολογίας του μικροοργανισμού, των μεθόδων απομόνωσης και ταυτοποίησής του, της παθογόνου δράσης, της επιδημιολογίας καθώς και της θεραπευτικής αγωγής που εφαρμόζεται στον άνθρωπο.

**Λέξεις ευρετηρίασης:** *Aeromonas hydrophila*, τρόφιμα, Δημόσια Υγεία, απομόνωση, πρόληψη.

**ABSTRACT.** Abraham A<sup>1</sup>, Papanotas K<sup>2</sup>. *Aeromonas hydrophila*, A human pathogen. *Bulletin of the Hellenic Veterinary Medical Society* 1999, 50(2):91-99. *Aeromonas hydrophila* has been considered human pathogen and is involved in gastroenteritis, wound infections and septicemia. It is also a cause of disease in fish, in amphibia and in reptiles. *A. hydrophila* can grow in chilled foods and has been isolated from the environment, from non chlorinated and chlorinated water, ready-to-eat meat from poultry meat, fish and fish products, raw milk and milk products and vegetables. The present article is a review article and deals with the isolation and identification procedures, pathogenesis and epidemiology of the microorganism and the therapy to humans.

<sup>1</sup> Εργαστηρίου Υγιεινής Τροφίμων Ζ.Π, Τμήμα Κτηνιατρικής ΑΠΘ.

<sup>2</sup> 412 Γενικό Στρατιωτικό Νοσοκομείο Αλεξανδρούπολης

<sup>1</sup> Laboratory of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Aristotle University of Thessaloniki

<sup>2</sup> 412 General Military Hospital of Alexandroupolis

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

Η *Aeromonas hydrophila* είναι παθογόνος μικροοργανισμός για τον άνθρωπο, τα κατώτερα σπονδυλωτά, περιλαμβανομένων και των ερπετών, τα αμφίβια και τα ψάρια.<sup>1</sup>

Περίπου ποσοστό 35% των κρουσμάτων τροφοδηλητηριάσεων, που καταγράφονται κάθε χρόνο στις Ηνωμένες Πολιτείες, είναι άγνωστης αιτιολογίας.<sup>2</sup> Πιθανολογείται, ότι το μεγαλύτερο μέρος των περιπτώσεων αυτών οφείλεται σε μικροοργανισμούς, οι οποίοι δεν αναζητούνται όταν γίνεται μια τρέχουσα εργαστηριακή εξέταση των τροφίμων. Δύο είδη του γένους η *A. hydrophila* και η *Aeromonas sobria* φαίνεται ότι αποτελούν το αίτιο γαστρεντερίτιδας του ανθρώπου και θα μπορούσαν ενδεχομένως να αποτελέσουν σημαντικό αιτιολογικό παράγοντα τροφοδηλητηριάσεων.<sup>3</sup>

Παρά την ύπαρξη πρόσφατων στοιχείων, που δημιουργούν τη βεβαιότητα ότι τουλάχιστον ορισμένα είδη του γένους προκαλούν εντερίτιδα<sup>4</sup> και ότι το νερό αποτελεί την πηγή προέλευσής τους,<sup>5</sup> εντούτοις δεν υπάρχουν εμπειριστατώμενα δεδομένα που να συνηγορούν ότι τα τρόφιμα εμπλέκονται επίσης στη μετάδοση ειδών του γένους *Aeromonas*. Τέτοιες πληροφορίες μπορεί να συμβάλλουν στη διασφάλιση της Δημόσιας Υγείας σε σχέση με την κατανάλωση τροφίμων ζωικής προέλευσης.

**Μορφολογία - Ταξινόμηση**

Το γένος Αερομονάς ανήκει στην οικογένεια των *Vibrionaceae* και αποτελείται από δύο ομάδες. Στην πρώτη ομάδα ανήκουν τα ψυχρόφιλα, ακίνητα είδη, όπως η *Aeromonas salmonicida*, στο οποίο περιλαμβάνονται τα υποείδη *salmonicida*, *achromogenes* και *masoucida*, ενώ στη δεύτερη ανήκουν τα μεσόφιλα είδη που είναι κινητά, όπως η *Aeromonas hydrophila*, η *Aeromonas sobria*, η *Aeromonas caviae*, η *Aeromonas veronii*, η *Aeromonas schubertii* και η *Aeromonas jandaei*.<sup>6,7</sup>

Σύμφωνα με το Bergey's Manual (1994) είναι δύσκολο να διαφοροποιηθούν τα νέα είδη του γένους *Aeromonas* από τα περισσότερα γνωστά *A. caviae*, *A. hydrophila*, *A. salmonicida* και *A. sobria*. Γι' αυτό το λόγο τα περισσότερα εργαστήρια που επικουρούν κλινικές χαρακτηρίζουν

τα απομονωμένα στελέχη ως μέλη: α) της ομάδας *A. caviae*, η οποία περιλαμβάνει τα είδη *A. caviae*, *A. eucrenophila* και *A. media*, β) της ομάδας *A. hydrophila*, η οποία περιλαμβάνει τα είδη *A. hydrophila* και τη βιοομάδα της *A. salmonicida* που είναι κινητά βακτήρια και γ) της ομάδας *A. sobria*, η οποία περιλαμβάνει τα είδη *A. sobria*, *A. veronii* ή το είδος *A. schubertii*.<sup>8</sup>

Μετά από μελέτες υβριδισμού του DNA προτάθηκε να καθιερωθούν τα εξής είδη: *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas caviae*, *Aeromonas veronii*, *Aeromonas schubertii*, *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas media*, *Aeromonas eucrenophila*, *Aeromonas jandaei* και *Aeromonas trota*.<sup>9</sup> Από παρόμοιες μελέτες άλλων ερευνητών, βασιζόμενες σε υβριδισμό του DNA-DNA αναγνωρίστηκαν και προτάθηκαν τουλάχιστον 13 γονότυποι (ομάδες υβριδισμού. HGs), οι οποίοι όμως με τις γνωστές φαινοτυπικές δοκιμές, δεν είναι ταυτόσημοι.<sup>10,11,12,13</sup> Τα πιο πρόσφατα περιγραφέντα νέα είδη αερομονάδας είναι η *Aeromonas schubertii* (HG 12), η *Aeromonas. trota* (HG 13), η *Aeromonas allosaccharophila* (αγνώστου HG) και η *Aeromonas. encheleia* (αγνώστου HG).<sup>11,12,14</sup>

Οι αερομονάδες είναι αρνητικοί κατά Gram κοκκοβάκιλλοι ευθείς, διαμέτρου 0,3-1,0 και μήκους 1,0-3,5 μm.<sup>8</sup> Τα κινητά είδη του γένους αερομονάδας έχουν μια πολική βλεφαρίδα μήκους 1,7 μm. Όμως σε νεαρές καλλιέργειες, που αναπτύσσονται σε στερεά θρεπτικά υποστρώματα, απαντούν κοκκοβάκιλλοι με μικρού μήκους με κοντές ετερόπλευρες βλεφαρίδες.<sup>15</sup>

### Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη της *A. hydrophila*

#### Οξυγόνο

*H.A. hydrophila* αναπτύσσεται εξίσου καλά τόσο σε αερόβιες όσο και σε αναερόβιες συνθήκες. Η ανάπτυξη σε αναερόβιες συνθήκες αναστέλλεται όταν η τιμή του pH είναι χαμηλότερη του 6 και η συγκέντρωση του NaCl μεγαλύτερη του 1,5% ή όταν η συγκέντρωση του νιτρώδους νατρίου είναι μεγαλύτερη των 50 μg/ml. Η φάση προσαρμογής και η λογαριθμική φάση ανάπτυξης επιμηκύνονται όταν αναπτύσσεται σε αναερόβιες συνθήκες με την ταυτόχρονη πώση της θερμοκρασίας, της τιμής του pH, την αύξηση της συγκέντρωσης του NaCl και των νιτρικών αλάτων.<sup>15,16</sup> Στον πίνακα 1 εμφανίζονται οι συνδυασμοί ορισμένων παραγόντων, που αναστέλλουν την ανάπτυξη της *A. hydrophila*.<sup>16</sup>

#### Θερμοκρασία

*H.A. hydrophila* αναπτύσσεται σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται μεταξύ 5 °C και 41 °C, με άριστη τους 28 °C.<sup>15</sup> *H.A. hydrophila* (στέλεχος NCTC 8049) είναι ευαίσθητο βακτήριο στην επίδραση της θερμοκρασίας ( $D_{55}^{\circ C} = 0,17$  min. και  $Z = 5,11$  °C).<sup>17</sup> Η τιμή  $D_{48}^{\circ C}$  για κύτταρα της *A. hydrophila* ευρισκόμενα σε φάση στασιμότητας και σε διάλυμα NaCl 0,85%, κυμάνθηκε μεταξύ 8,49 και 6,64 min, ε-

**Πίνακας 1.** Διάφοροι συνδυασμοί θερμοκρασίας, συγκέντρωσης NaCl, pH και NaNO<sub>2</sub>, οι οποίοι αναστέλλουν την ανάπτυξη της *A. hydrophila* υπό αναερόβιες συνθήκες.<sup>16</sup>

Θερμοκρασία °C	NaCl %	pH	NaNO <sub>2</sub> mg/L
5	0,5	5,8	200
5	3,5	5,3	0
5	3,5	5,8	150
12	3,5	5,8	50*
12	3,5	5,3	150
19	4,5	6,3	100
19	2,5	5,3	100
19	2,5	5,8	100*
28	3,5	5,8	50*
28	1,5	5,8	150*
37	0,5	5,8	200
37	4,5	5,8	200
37	4,5	5,8	0
37	0,5	5,8	200
37	0,5	5,3	0
37	1,5	5,3	0
37	0,5	5,8	5
37	0,5	5,8	100
37	0,5	5,8	150
42	2,5	6,3	100
42	0,5	7,3	0*
42	0,5	5,3	0
42	1,5	5,3	0

\* Ανάπτυξη σε διάφορους συνδυασμούς αερόβιους.

νώ σε γάλα κυμάνθηκε μεταξύ 3,20 και 6,23 min. Όταν τα κύτταρα που θερμάνθηκαν βρίσκονταν στη φάση της λογαριθμικής ανάπτυξης, τότε η τιμή  $D_{48}^{\circ C}$  σε διάλυμα NaCl 0,85%, κυμάνθηκε μεταξύ 2,23 και 8,73 min, ενώ η τιμή  $Z$  μεταξύ 5,22 και 7,69 °C.<sup>18</sup>

#### Συντελεστής Ενεργού Ύδατος ( $a_w$ )

Η ελάχιστη τιμή  $a_w$  στην οποία αναπτύσσεται η *A. hydrophila* εξαρτάται από το στέλεχος, τη θερμοκρασία και από την ουσία με την οποία ρυθμίστηκε η τιμή του  $a_w$  (NaCl, γλυκερόλη, πολυαιθυλική γλυκόλη) και κυμαίνεται από 0,940 έως 0,973 στους 28 °C, από 0,959 έως 0,980 στους 10 °C και από 0,975 έως 0,980 στους 3,8 °C.<sup>19</sup>

#### pH

*H.A. hydrophila* αναπτύσσεται σε τιμές pH, που κυμαίνονται από 4 έως 10. Είναι ευαίσθητη σε τιμές pH χαμηλότερες του 6 και επομένως δεν δημιουργεί πρόβλημα υγιείας όσον αφορά τα φυσικώς ή τεχνητώς οξεισιμένα τρόφιμα καθώς και το νερό πηγών που περιέχει ανθρακικό οξύ.<sup>20</sup> Η προσθήκη οργανικών οξέων (οξικό, κιτρικό, τρυ-

**Πίνακας 2.** Διάφοροι συνδυασμοί θερμοκρασίας και συγκέντρωσης NaCl και ασκορβικού οξέος, οι οποίοι αναστέλλουν την ανάπτυξη της *A. hydrophila*.<sup>23</sup>

Θερμοκρασία (°C)	NaCl (%)	Ασκορβικό οξύ (mmol l <sup>-1</sup> )
5	0	0,1
5	0	0,2
5	1,5	0,1
5	1,5	0,2
5	3,0	0,0
5	3,0	0,1
5	3,0	0,2

γικό), αναστέλλει την ανάπτυξη του βακτηρίου σε υψηλότερες τιμές pH από ό,τι η προσθήκη ανόργανων οξέων (υδροχλωρικό, θειικό).<sup>21</sup>

### NaCl

*H. A. hydrophila* είναι ευαίσθητο βακτήριο και δεν μπορεί να αναπτυχθεί σε ζωμούς που περιέχουν 5% NaCl.<sup>20</sup> Ορισμένα στελέχη της *A. hydrophila* αναπτύχθηκαν σε θερμοκρασία 28 °C παρουσία 4% NaCl.<sup>22</sup> Σε συγκεντρώσεις NaCl μεγαλύτερες από 1,5% παρατηρείται επιμύκωση της φάσης προσαρμογής και βραδύτερη ανάπτυξη.<sup>15</sup> Στον πίνακα 2 καταγράφεται η συνδυασμένη επίδραση της θερμοκρασίας, της συγκέντρωσης του NaCl και του ασκορβικού οξέος στην ανάπτυξη της *A. hydrophila*.<sup>23</sup>

### Ακτινοβολίες

*H. A. hydrophila* είναι σχετικά ευαίσθητη στην επίδραση των ιονιζουσών ακτινοβολιών. Οι τιμές D κυμαίνονται μεταξύ 1,4 και 2,2 Kgy.<sup>20</sup> Δόση 3 Kgy είναι ικανή να εξαλείψει το βακτήριο από τα νωπά τρόφιμα. Η χρήση υπερϊώδους ακτινοβολίας για την εξυγίανση των υπόγειων νερών, πριν από την εμφιάλωσή τους αποτελεί συνηθισμένη μέθοδο εξυγίανσης σε ορισμένες χώρες.<sup>20</sup> Σε κεφτέδες δόση 0,75 Kgy ήταν ικανή να εξαλείψει το μικροοργανισμό όταν η συγκέντρωση του ήταν 10<sup>4</sup> CFU/g.<sup>24</sup>

### Σύνθεση ατμόσφαιρας

Το CO<sub>2</sub> έχει ανασταλτική επίδραση στην *A. hydrophila*. Παρουσία CO<sub>2</sub> και σε θερμοκρασία 30 °C επιμύκνεται η φάση προσαρμογής του βακτηρίου, ενώ σε θερμοκρασία 5 °C παρατηρείται μείωση του συνολικού πληθυσμού. Αντιθέτως, παρουσία N<sub>2</sub> επιταχύνεται η ανάπτυξη των τραυματισμένων και μη βακτηρίων σε θερμοκρασία 5 °C, όχι όμως και σε θερμοκρασία 30 °C.<sup>20,25</sup> Σε θερμοκρασία 5 °C ή 13 °C σε ατμόσφαιρα αποτελούμενη από 36% CO<sub>2</sub>, 13% O<sub>2</sub> και 51% N<sub>2</sub>, επιβραδύνεται η ανάπτυξη της *A. hydrophila* σε μαγειρευμένο μυτιωτό μπακαλιάρου του Ατλαντικού ή σε σουρίμι.<sup>26</sup> Η *A. hydrophila* αναπτύχθηκε αργά σε μαγειρευμένες ουρές καραβίδας,

που συντηρήθηκαν στο περιβάλλον ή σε κενό και θερμοκρασία 2 °C έως 6 ημέρες.<sup>26</sup>

### Παθογόνος δράση - Συμπτώματα

Η *A. hydrophila* είναι παθογόνος για τα ερπετά, τα αμφίβια, τα ψάρια και τα θηλαστικά συμπεριλαμβανομένου και του ανθρώπου.<sup>21,27</sup> Κατά το χρονικό διάστημα μεταξύ 1989-1992 στην Κίνα πρωτοεμφανίστηκε μια νέα μολυσματική ασθένεια στα ψάρια της οικογένειας των κυπρινιδών, η λεγόμενη «βακτηριακή σηψαιμία». Κύριος υπαίτιος αποδείχθηκε ότι ήταν η *A. hydrophila*.<sup>28</sup>

Ο μηχανισμός της παθογόνου δράσης του μικροοργανισμού δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως. Από τα 3 κλητή είδη, η *A. sobria* θεωρείται η πλέον παθογόνος, ενώ η *A. hydrophila* παρουσιάζει ήπια παθογόνο δράση.

Οι αερομονάδες παράγουν διάφορες ουσίες καθώς επίσης και τοξίνες, αλλά η παθογόνος δράση τους όσον αφορά τον άνθρωπο δεν είναι απόλυτα γνωστή. Δεν υπάρχει καμιά απόδειξη ότι η παθογόνος δράση οφείλεται σε τοξίνες, που σχηματίζονται στα τρόφιμα. Εξάλλου, μολονότι είναι πιθανό να σχηματίζονται τοξίνες in vivo, δεν έχει επιβεβαιωθεί η συμμετοχή τους στην παθογόνο δράση της *A. hydrophila*. Έχει διατυπωθεί όμως η άποψη ότι μάλλον διευκολύνουν την εγκατάσταση του μικροοργανισμού στο έντερο και βοηθούν την προσκόλληση και / ή την εισβολή του βακτηρίου, παρά προκαλούν άμεσα εντερίτιδα.<sup>20</sup>

Οι εξωτοξίνες που παράγονται από *A. hydrophila* είναι: α) αιμολυσίνη, β) κυτοτοξίνη, γ) εντεροτοξίνη και δ) κυτοτονική τοξίνη (Cholera toxin-like factor)<sup>29</sup>, ε) πρωτεάση.<sup>30</sup> Ο Agger και συν. (1985) διαπίστωσαν ότι ποσοστό 62% των στελεχών της *A. hydrophila*, τα οποία απομονώθηκαν από κόπρανα ασθενών που παρουσίαζαν διάρροια, παρήγαγαν κυτοτοξίνη.<sup>21</sup> Ο Haque και συν. (1996) διαπίστωσαν ότι και τα 35 στελέχη της *A. hydrophila* που απομονώθηκαν από διαρροϊκά κόπρανα ασθενών παρήγαγαν κυτοτοξίνη, αιμολυσίνη και λεκιθινάση σε θερμοκρασία 37 °C, 30 °C και 15 °C.<sup>25</sup> Εντεροτοξίνη παρήγαγαν και τα 32 στελέχη της *A. hydrophila*, που απομόνωσαν ο Goodwin και συν. (1983), από διαρροϊκά κόπρανα ασθενών.<sup>32</sup> Παρόμοιες μελέτες έδειξαν ότι ποσοστό 66% σε σύνολο 96 στελεχών της *A. hydrophila* που απομονώθηκαν από κόπρανα ασθενών παρήγαγαν κυτοτοξίνη και αιμολυσίνη.<sup>33</sup> Τέλος, σύμφωνα με κλινικές μελέτες, το ποσοστό των στελεχών της *A. hydrophila*, που παράγουν εντεροτοξίνες και κυτοτοξίνες, κυμαινόταν από 79 έως 95%.<sup>34</sup>

Η κυτοτονική τοξίνη είναι δυνατόν να ανιχνευτεί με τις περισσότερες μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση τοξινών, όπως συμβαίνει με τις τοξίνες του *Vibrio cholerae* ή και τις L.T της *E. coli*.<sup>20</sup>

Η συχνότητα απομόνωσης του βακτηρίου από δείγματα τα κοπράνων ανθρώπου είναι μεγαλύτερη στις τροπικές χώρες της Ασίας, της Νότιας Αμερικής και της Αυστρα-

**Πίνακας 3.** Περιστατικά με συμπτώματα διάρροιας, που αποδίδονται στην *A. hydrophila*.

Τόπος	Έτος	Αριθμ. ασθενών και ηλικία	Απομόνωση από: Τρόφιμα	Κόπρανα	Βιβλιογραφία
Αυστραλία	1982	1156 (παιδιά)	ΔΕ*	10,8%	42
ΗΠΑ	1987	3334	ΔΕ	248	42
Αίγυπτος	1987	183	ΔΕ	1	43
Σ. Αραβία	1986-89	15548	ΔΕ	58	44
Ινδία	1988-89	2480 (<5 ετών)	ΔΕ	35	45
Κουβέιτ	1989	343 (παιδιά)	ΔΕ	0,9%	46
Ισπανία	1989	8	Οστρεοειδή	2	47
Νιγηρία	1989	100	ΔΕ	1	48
Χιλή	1989	156 (<2 ετών)	ΔΕ	1	49
Κίνα	1989	221 (παιδιά)	ΔΕ	6%	50
Τζιμπουτί	1990	209	ΔΕ	3,3%	51
Σιγκαπούρη	1988-92	4508	ΔΕ	1,8%	52

ΔΕ\* = Δεν εξετάστηκε

λίας και μικρότερη στις ΗΠΑ και στις Ευρωπαϊκές χώρες.<sup>20</sup> Η *A. hydrophila* προκαλεί γαστρεντερίτιδες σε υγιή άτομα, ενώ σε ανοσοκατασταλμένα και σε πλέον ευαίσθητα, όπως αυτά που πάσχουν από λευχαιμία και κίρρωση του ήπατος, διάσπαρτες λοιμώξεις όπως το *Vibrio vulnificus*. Η παρουσία της αερομονάδας στο εντερικό σωλήνα του ανθρώπου είναι συνήθως παροδική, αλλά η διάρκεια της παραμονής της στο έντερο των ανοσοκατασταλμένων ατόμων είναι δυνατόν να είναι μεγαλύτερη.

Στον άνθρωπο οι γαστρεντερικές λοιμώξεις εκδηλώνονται με δύο ξεχωριστές μορφές. Η πρώτη (ποσοστό 75% των περιπτώσεων) εμφανίζεται με συμπτώματα όμοια με εκείνα της χολέρας και χαρακτηρίζεται από υδαρή κόπρανα και ελαφρό πυρετό ή από απουσία πυρετού. Η διάρροια είναι δυνατόν να συνοδεύεται με πόνο στην υπογάστρια χώρα ή με συσπάσεις των κοιλιακών μυών. Η δεύτερη μορφή της γαστρεντερίτιδας χαρακτηρίζεται από την αποβολή αιματηρών και βλενωδών κοπράνων. Εμετός παρατηρείται σπάνια, ενώ είναι δυνατόν να υπάρχει πόνος στην υπογάστρια χώρα.<sup>35</sup>

Η γαστρεντερίτιδα συνήθως είναι ελαφράς μορφής και αυτοπεριοριζόμενη. Έχουν όμως αναφερθεί σοβαρές περιπτώσεις γαστρεντερίτιδας και κατά τις δύο μορφές της νόσου, οπότε απειλείται ακόμη και η ζωή του πάσχοντα.<sup>36</sup> Όσον αφορά την πρώτη μορφή, τα συμπτώματα μοιάζουν με εκείνα της *Cholera gravis*, ενώ διαφορετική διάγνωση είναι αδύνατον να γίνει εάν δεν υποβληθούν τα κόπρανα σε μικροβιολογικές εξετάσεις. Όσον αφορά τη δεύτερη μορφή, ενίοτε η γαστρεντερίτιδα παρατείνεται επί ένα μήνα ή και περισσότερο, παρ' όλο, ότι προσδοκά-

ται πλήρης ανάρρωση μετά από χορήγηση αντιβιοτικών.<sup>20</sup>

Η *A. hydrophila* μπορεί να προκαλέσει γαστεροεντερίτιδα σε ανοσοκατασταλμένα άτομα. Σηψαιμία και μηνιγγίτιδα είναι οι πλέον συνήθεις παθολογικές εκδηλώσεις και συνοδεύονται κυρίως από υπόταση, ρίγη, κοιλιακό πόνο και λιγότερο συχνά από ναυτία, εμετό και δερματικές αλλοιώσεις.<sup>20</sup> Σε σπάνιες περιπτώσεις εμφανίζονται λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος, των οφθαλμών, των πνευμόνων, οστεομυελίτιδα και ενδοκαρδίτιδα.<sup>28,37</sup> Η θνητότητα λόγω παρεντερικών λοιμώξεων σε ανοσοκατασταλμένα άτομα είναι δυνατόν να υπερβαίνει το 60%.<sup>30</sup> Πύλη εισόδου όσον αφορά τις μεταδοτικές (διάσπαρτες) λοιμώξεις είναι δυνατόν να είναι η γαστρεντερική οδός, λόγω κατανάλωσης τροφίμων μολυσμένων με αερομονάδες.<sup>39</sup>

## ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Από τις μέχρι σήμερα επιδημιολογικές μελέτες έχει αποδειχθεί ότι η *A. hydrophila* είναι ένα "ευκαιριακά εντεροπαθογόνο" βακτήριο. Οι λοιμώξεις που οφείλονται σ' αυτήν, όπως και σε άλλα αρνητικά κατά Gram εντεροπαθογόνα βακτήρια, είναι συνηθέστερες σε χώρες όπου το επίπεδο υγιεινής είναι χαμηλό. Ο μικροοργανισμός είναι ένας από τους αιτιολογικούς παράγοντες της "διάρροιας των ταξιδιωτών" σε χώρες της Ασίας, της Αφρικής και της Λατινικής Αμερικής.<sup>15</sup>

Μεταξύ των υγιών ατόμων, τα παιδιά διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο. Οι περισσότερες γαστρεντερίτιδες αφορούν παιδιά ηλικίας 6 μηνών έως 2 ετών, ενώ η συχνότητα εμφάνισης είναι πάρα πολύ μικρή σε παιδιά ηλικίας άνω των 5 ετών. Όσον αφορά τους ενήλικους, η νόσος εκ-



δηλώνεται συχνότερα σε άτομα ηλικίας άνω των 60 ετών. Μεταξύ των ατόμων που πάσχουν από νεοπλασίες, οι λοιμώξεις που οφείλονται στην *A. hydrophila*, σε ποσοστό 80% των περιπτώσεων, αφορούν άρρενες.<sup>20</sup>

Στην Ιταλία είδη του γένους *Aeromonas* απομονώθηκαν από διαρροϊκά κόπρανα παιδιών σε ποσοστό 3,7% και από κόπρανα υγιών παιδιών (μαρτύρων) σε ποσοστό 2,1%. Η παρουσία μεγάλου αριθμού αερομονάδων στα κόπρανα συνήθως συσχετίζεται με την εμφάνιση διάρροιας. Οι διαφορές που παρατηρούνται ως προς τη συχνότητα απομόνωσης από φυσιολογικά ή διαρροϊκά κόπρανα προφανώς οφείλεται στο ότι η αερομονάδα απαντά σε διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές, αλλά και στη μεγάλη ποικιλία των υποστρωμάτων που χρησιμοποιούνται στα εργαστήρια για την απομόνωσή της από τα κόπρανα. Όσον αφορά την εποχική διακύμανση, παρατηρήθηκε ότι περιστατικά διάρροιας συχνότερα εμφανίζονται το καλοκαίρι και φθινόπωρο.<sup>40</sup> Τέλος, *A. hydrophila* απομονώθηκε από χέρια και νύχια εργατών σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας τροφίμων.<sup>41</sup>

Στον πίνακα 3 καταγράφονται περιστατικά με συμπτώματα διάρροιας, που οφείλονται στην *A. hydrophila*.

### Παρουσία της *A. hydrophila* στο νερό και στα τρόφιμα

Η *A. hydrophila* είναι ευρέως διαδεδομένη στα υδάτινα οικοσυστήματα.<sup>52</sup> Ο πληθυσμός της στο νερό των ποταμών και λιμνών κυμαίνεται από <1 CFU/ml έως >10<sup>4</sup> CFU/ml.<sup>53</sup> Νερό που προερχόταν από πηγάδι στη Σουηδία περιείχε 6,4x10<sup>2</sup> CFU/ml και η *A. hydrophila* θεωρήθηκε πιο αξιόπιστος δείκτης της ποιότητας του νερού από ό,τι ο αριθμός των κολοβακτηριοειδών ή της *Escherichia coli*.<sup>20,54</sup> Ο πληθυσμός του βακτηρίου στο νερό εξαρτάται από το βαθμό μόλυνσής του με λύματα, από τη θρεπτική ικανότητά του (περιεκτικότητα σε φυτοπλαγκτόν, χλωροφύλλη, φωσφόρο) και από τη θερμοκρασία του. Η *A. hydrophila* απομονώθηκε από χλωριωμένα και μη νερά,<sup>55,56</sup> από νερά πηγαδιών και από εμφιαλωμένα νερά πηγών.<sup>57</sup> Στη Σαουδική Αραβία σε σύνολο 139 δειγμάτων νερού που εξετάστηκαν για την παρουσία της *A. hydrophila*, 95 (61.1%) ήταν θετικά και μάλιστα εμφιαλωμένα νερά πηγών.<sup>58</sup> Ο Handfield και συν. (1996)<sup>59</sup> απομόνωσαν την *A. hydrophila* από πόσιμο νερό. Το νερό που χρησιμοποιείται κατά την προετοιμασία των σφαγίων και την επεξεργασία του κρέατος θεωρείται η βασική πηγή μόλυνσης για όλα τα είδη κρέατος, συμπεριλαμβανομένου και του κρέατος των πουλερικών. Η *A. hydrophila* μπορεί να αναπτυχθεί στα λύματα, όπου ο πληθυσμός της είναι δυνατόν να φθάσει σε 10<sup>7</sup> έως 10<sup>8</sup> CFU/ml, καθώς επίσης και σε διάφορα σημεία της υδραυλικής εγκατάστασης των οικιών.

Η *A. hydrophila* απομονώνεται από τρόφιμα ζωικής προέλευσης όπως το ερυθρό κρέας, το κρέας των πουλερι-

κών, το νωπό γάλα,<sup>20</sup> τα ψάρια, τα μαλάκια, και τα μαλακόστρακα.<sup>60</sup> Στη Βραζιλία σε σύνολο 35 δειγμάτων παστεριωμένου γάλακτος και 25 δειγμάτων τυριών που εξετάστηκαν, ποσοστό 12,8% και 26,9% αντιστοίχως ήταν θετικά για την *A. hydrophila*. Στην Ελλάδα σε σύνολο 138 δειγμάτων απαστεριωτού αγελαδινού γάλακτος που εξετάστηκαν, 56 δείγματα (40,6%) ήταν θετικά σε *Aeromonas spp.* Από τα θετικά δείγματα 22 ήταν θετικά για την *A. hydrophila*, 18 για την *A. caviae*, 5 για την *A. sobria*, ενώ 11 δεν ταξινομούνται στα ανωτέρω τρία είδη. Σε σύνολο 57 δειγμάτων απαστεριωτού πρόβειου γάλακτος που εξετάστηκαν, 20 δείγματα (35%) ήταν θετικά σε *Aeromonas spp.*, εκ των οποίων τα 8 ήταν θετικά για την *A. hydrophila*, τα 6 για την *A. caviae*, τα 2 για την *A. sobria*, ενώ 4 θετικά δείγματα δεν ταξινομούνταν στα ανωτέρω τρία είδη.<sup>61</sup> Από την εξέταση 39 δειγμάτων ανθότυπου και 36 δειγμάτων μανουριού βρέθηκαν θετικά στην *A. hydrophila* 4 (10,2%) και 3 (8,3%) αντίστοιχα. Αντίθετα, αρνητικά για *Aeromonas spp.* ήταν όλα (23) τα δείγματα φρέσας και όλα (15) τα δείγματα ρυζόγαλου που εξετάστηκαν.<sup>61</sup> Η *A. hydrophila* απομονώθηκε από 12 διαφορετικά είδη τροφίμων φυτικής προέλευσης όπως το σπανάκι, το μαρούλι, τα μπρόκολα, ο μαϊντανός κ.α. Επίσης απομονώθηκε από φρέσκα αυγά, βιαραποπόδαρα, κρέας φιδιών, έτοιμα προϊόντα κρέατος θηλαστικών και πουλερικών, σαλάτες, αρτοσκευάσματα,<sup>20</sup> κρέας αμνού,<sup>62</sup> κατεψυγμένα τρόφιμα ζωικής προελεύσεως,<sup>63</sup> έτοιμα φαγητά, βόειο κρέας, οστρακόδερμα, και από λάχανο σαλάτα.<sup>64</sup> Γενικά απομονώνεται με αυξημένη συχνότητα από ψάρια και άλλα θαλασσινά (Στις Η.Π.Α σε στρείδια καταμετρήθηκαν πληθυσμοί της τάξης των 3-4600/100 g) και στο νερό 3-2400/100 ml.<sup>65</sup>

### Απομόνωση και ταυτοποίηση της *A. hydrophila*

#### Εμπλουτισμός - Εμπλουτιστικά υποστρώματα

Ο απευθείας ενοφθαλμισμός σε στερεά θρεπτικά υποστρώματα είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί για δείγματα των τροφίμων που αναμένεται να περιέχουν μεγάλο αριθμό αερομονάδων. Επειδή όμως αυτό δεν είναι συνήθως γνωστό εκ των προτέρων, χρησιμοποιούνται εμπλουτιστικά υποστρώματα. Όμως για την απομόνωση της *A. hydrophila* από τρόφιμα που υπέστησαν θερμική επεξεργασία ή κατάψυξη ή άλλου είδους επεξεργασία πρέπει να γίνεται εμπλουτισμός. Ένας μεγάλος αριθμός εμπλουτιστικών υποστρωμάτων έχουν προταθεί και χρησιμοποιηθεί, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται τα: Alkaline peptone water (pH 8,5-8,8),<sup>66</sup> Tryptone soy broth, Tryptone soy broth με 10 μg αμπικιλίνη, Tryptone soy broth με 2% NaCl<sup>20</sup> και Tryptone broth (8 g/L Difco tryptone, 5 g/L NaCl, pH 7).<sup>67</sup> Το υπόστρωμα Tryptone soy broth με αμπικιλίνη είναι το πλέον διαδεδομένο, παρ' όλο που το υπόστρωμα Alkaline peptone water προτιμάται από ορισμένους ερευνητές, διότι έχει το πλεονέκτημα να βοηθά στην ανάπτυξη στελεχών, που είναι ευαίσθητα στην αμπικιλίνη. Άριστη θερμοκρασία επώασης είναι η των 28 °C επί 24 ώρες.<sup>20</sup>

**Πίνακας 4.** Βιοχημικές ιδιότητες των ειδών *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria* και *A. veronii*.<sup>20</sup>

Βιοχημικές ιδιότητες	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. caviae</i>	<i>A. sobria</i>	<i>A. veronii</i>
Αποκαρβοξυλίωση της ορνιθίνης	-	-	-	+
Υδρόλυση της εσκουλίνης	+	+	-	+
Ανάπτυξη παρουσία KCN	+	+	-	+/-
Παραγωγή αερίου από τη γλυκόζη	+	-	+	+
Παραγωγή ακετυλο-μεθυλοκαρβινόλης	+	-	+/-	+
Παραγωγή H <sub>2</sub> S από την κυστεΐνη	+	-	+	-
Χρησιμοποίηση				
L-ιστιδίνης	+	+	-	-
L-αργινίνης				
L-αραβινόζης	+	+	-	-
Παραγωγή οξέος από τη σαλικίνη	+	+	-	+

### Εκλεκτικά υποστρώματα

Ένας μεγάλος αριθμός εκλεκτικών υποστρωμάτων έχει χρησιμοποιηθεί για την απομόνωση των ειδών του γένους *Aeromonas* από τα τρόφιμα. Μεγαλύτερη σημασία έχει δοθεί στην απομόνωση του είδους *A. hydrophila*. Τα περισσότερα στελέχη της *A. hydrophila* αναπτύσσονται σε *Aeromonas* agar,<sup>68</sup> *MacConkey Agar*, *Drigalski agar*, *SS agar*, *Cefsulodin-irgasan-novobiocin agar*.<sup>69</sup> Μεταξύ των τροποποιημένων υποστρωμάτων περιλαμβάνονται τα: *Rimlev-shotts agar*, *Xylose-deoxycholate-citrate agar*, *Bile salt brilliant green agar* με άμυλο και το *MacConkey agar* με προσθήκη αμπικιλίνης. Άλλα εκλεκτικά υποστρώματα με παράγοντα επιλογής την αμπικιλίνη είναι τα: *Αιματούχο άγαρ* με αμπικιλίνη (*Columbia blood agar*, 5% αίμα προβάτου και 10 μg *Ampicillin/ml*), *Peptone beef extract glycogen agar*,<sup>70</sup> *Starch ampicillin agar*,<sup>71</sup> *MacConkey mannitol ampicillin agar*, *Ampicillin dextrin agar*,<sup>72</sup> *MacConkey xylose ampicillin agar* και *Aeromonas agar*.<sup>20</sup> Το τελευταίο αυτό υπόστρωμα χρησιμοποιείται ευρύτατα από τη βιομηχανία τροφίμων. Η άριστη θερμοκρασία επώασης είναι 28 °C και η διάρκεια της 18 - 24 ώρες.<sup>20</sup>

### Ταυτοποίηση

Οι βιοχημικές διαφορές μεταξύ των ειδών *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*, *A. veronii* καθώς οι διαφορές μεταξύ του γένους *Aeromonas* και των γενών *Pseudomonas* και *Shigella* καταγράφονται στους πίνακες 4 και 5.

Οι βιοχημικές ιδιότητες σύμφωνα με τις οποίες γίνε-

**Πίνακας 5.** Διαφορές ως προς τις βιοχημικές ιδιότητες μεταξύ του γένους *Aeromonas* και των γενών *Pseudomonas* και *Shigella*.<sup>20</sup>

Βιοχημικές ιδιότητες	<i>Aeromonas</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Shigella</i>
Παραγωγή οξειδάσης	+	+	-
Ζύμωση της γλυκόζης	+	-	+
Παραγωγή αερίου από τη γλυκόζη	+/-	-	-
Χρησιμοποίηση κίτρικών αλάτων	-/+	+/-	-
Παραγωγή οξέος από τη μαννιτόλη	+	-	+/-
Κινητικότητα	+	+	-

ται η διαφοροποίηση της *A. hydrophila* από ορισμένους άλλους μικροοργανισμούς που συχνά απαντούν στα τρόφιμα, όπως η *A. salmonicida*, η *Plesiomons shigelloides*, τα εντεροβακτηριοειδή καθώς και είδη του γένους *Vibrio* καταγράφονται στον πίνακα 6.

Το 1992 προτάθηκε μια λειτουργική κλειδα, που ονομάστηκε κλειδα *Aerokey II*, για τη διαφοροποίηση των ειδών του γένους *Aeromonas*, τα οποία απομονώνονται από κλινικά δείγματα. Η κλειδα αυτή περιλαμβάνει τις εξής δοκιμές: Υδρόλυση της εσκουλίνης, παραγωγή αερίου από

**Πίνακας 6.** Βιοχημικές ιδιότητες, που διαφοροποιούν την *A. hydrophila* από άλλους μικροοργανισμούς οι οποίοι συχνά απαντούν στο ίδιο περιβάλλον.<sup>15</sup>

Χαρακτηριστικά της <i>A. hydrophila</i>	Διαφοροποίηση από:
Οξειδάση θετική	<i>Enterobacteriaceae</i>
Ζύμωση ζαχάρων	<i>Pseudomonas spp.</i>
Ανάπτυξη σε θρεπτικό ζωμό χωρίς την προσθήκη NaCl Ανθεκτικότητα στο δονακιο στατικό παράγοντα 0/129	Αλόφιλα είδη <i>Vibrio</i>
Παραγωγή DNase Αδυναμία μεταβολισμού της ινοσιτόλης Ανθεκτικότητα στο δονακιο στατικό παράγοντα 0/129	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
Κινητικότητα ανάπτυξη σε θερμοκρασία 37 °C	<i>A. salmonicida</i>

τη γλυκόζη, παραγωγή οξέος από την αραβινόζη, παραγωγή ινδόλης, παραγωγή ακετυλομεθυλοκαρβινόλης και ανθεκτικότητα σε συγκέντρωση 30 µg κεφαλοθίνης. Από τα 60 στελέχη που εξετάστηκαν, ποσοστό 97% ταυτοποιήθηκε επακριβώς μέχρι το επίπεδο του είδους.<sup>73</sup>

Από τα κυκλοφορούντα στο εμπόριο ειδικά μικροσυστήματα για την ταχεία ταυτοποίηση των αερομονάδων το API ATB 32E και το API 20 NE διαφοροποιούν την *A. hydrophila* από την *A. sobria* όχι όμως και από την *A. caviae*.<sup>15</sup> Το API 20E ταυτοποιεί όλα τα γνωστά στελέχη, ενώ το API RE ποσοστό 77% των στελεχών και το API NFT ποσοστό 87% των γνωστών στελεχών.<sup>8</sup> Αξιόπιστα αποτελέσματα σε ποσοστό ταυτοποίησης 97.5% προκύπτουν με τη χρήση του Microbact 24 E (ΜΕΟVET) και API 20NE.<sup>74</sup>

### Φαινόμενο αυτοκτονίας

Το "φαινόμενο αυτοκτονίας" χρησιμοποιείται για τη διαφοροποίηση των κινητών ειδών του γένους *Aeromonas* και συνδέεται με την παρουσία γλυκόζης στο υπόστρωμα. Το "φαινόμενο αυτοκτονίας" βασίζεται στην καταστολή του κύκλου του τρικαρβοξυλικού οξέος, λόγω της παρουσίας γλυκόζης, που οδηγεί στη συσσώρευση οξικού άλατος, το οποίο προκαλεί το θάνατο του βακτηρίου. Το φαινόμενο αυτό σε συνδυασμό με την ικανότητα υδρόλυσης της γλυκόζης και την παραγωγή αερίου καθώς και την υδρόλυση της εσουλίνης, χρησιμεύει για τη διαφοροποίηση της *A. hydrophila* από την *A. sobria* και την *A. caviae*.<sup>20</sup>

### ΠΡΟΛΗΨΗ

Για την προστασία της Δημόσιας Υγείας από τον κίνδυνο μόλυνσης από την *A. hydrophila* πρέπει να ληφθούν

τα εξής μέτρα.

1. Αναζήτηση αξιόπιστου μικροβιακού δείκτη μόλυνσης των νερών και ανάπτυξη νέων τεχνολογιών για την επεξεργασία των αποβλήτων. Οι Ολλανδοί πρότειναν ως ανώτατο επιτρεπτό όριο τις 20 CFU/100ml για το πόσιμο νερό στο εργοστάσιο υδρεύσεως και τις 200 CFU/ml στο δίκτυο διανομής.<sup>20</sup>

2. Θέσπιση ορίων όσον αφορά τα εμφιαλωμένα νερά πηγών, επειδή είναι γνωστή η ευαισθησία των ομάδων υψηλού κινδύνου, που ως γνωστό καταναλώνουν συνήθως εμφιαλωμένα νερά.

3. Αποφυγή κατά το δυνατόν της μόλυνσης των τροφίμων και αποτελεσματική θέρμανση και αναθέρμανση τους.

### Αντιμετώπιση - Θεραπεία

Οι περισσότερες λοιμώξεις, οι οποίες οφείλονται σε είδη του γένους *Aeromonas*, είναι αυτοπεριοριζόμενες γι' αυτό και δεν συνιστάται ειδική θεραπεία.<sup>75</sup> Σε περιπτώσεις σοβαρής διάρροιας η κατάσταση αντιμετωπίζεται με ενυδάτωση και υποστηρικτική θεραπεία. Αντιμικροβιακή θεραπεία ενδείκνυται σε περιπτώσεις συστηματικών λοιμώξεων και όταν τα συμπτώματα παρατείνονται.<sup>20</sup>

Αντιβιοτικά επιλογής είναι η χλωραμφαινικόλη, οι τετρακυκλίνες και η κοτριμοξαζόλη. Δεν είναι ασύνηθες φαινόμενο η ανθεκτικότητα στελεχών, που προέρχονται από κλινικά περιστατικά στη χλωραμφαινικόλη ή στις τετρακυκλίνες.<sup>15</sup>

### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Knochel S. Effect of temperature on hemolysin production in *Aeromonas* spp. isolated from warm and cold environments. *Int J Food Microbiol* 1989, 9:225-235.
2. Buchanan EL, Palumbo SA. *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas sobria* as potential food poisoning species: a review *J Food Safety*. 1985, 7:15-29.
3. Okrendo AJG, Rose BE, Bennett B. Incidence and toxigenicity of *Aeromonas* species in retail poultry, beef and pork. *J Food Prot* 1987, 50:509-513,
4. Millership SE, Curnow SR, Chattopadhyay B. Faecal carriage rate of *Aeromonas hydrophila*. *J Clin Pathol* 1983, 36:920-923.
5. Burke V, Gracey M, Robinson J, Peck D, Beaman J, Bundell. The microbiology of childhood gastroenteritis gastroenteritis: *Aeromonas* species and other infective agents. *J Infect Dis* 1983, 148:68-74.
6. Aldova E, Shindler J. The *Aeromonas* genus. *Cesk Epidemiol Microbiol Immunol*. 1991, 40:177-190.
7. Freitas AC, Nunes MP, Milhomen AM, Ricciardi. ID. Occurance and characterization of *Aeromonas* species in pasteurized milk and white cheese in Rio de Janeiro, Brazil. *J Food Prot* 1993, 50:62-65.
8. Holt JH, Krieg NR, Sneath PH A, Staley JT, Williams ST. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th edition. Williams and Wilkins. London 1994, 191
9. Carnahan AM, Chakraborty T, Fanning GR, Verma D, Ali



- A, Janda JM, Joseph SW. *Aeromonas trota* sp. nov., an ampicillin susceptible species isolated from clinical specimen. J Clin Microbiol 1991, 29:1206-1210.
10. Altwegg M, Steigerwalt AG, Altwegg BR, Luthy HJ, Brenner DJ. Biochemical identification of *Aeromonas* genospecies isolated from humans. J Clin Microbiol 1990, 28:258-264.
  11. Janda JM. Recent advances in the study of the taxonomy, pathogenicity, and infectious syndromes associated with the genus *Aeromonas*. Clin Microbiol 1991, 4:397-410.
  12. Joseph SW, Carnahan. The isolation, identification, and systematics of the motile *Aeromonas* species. Ann Rev Fish Dis 1994, 4:315-343.
  13. Hanninen ML, Siitonen A. Distribution of *Aeromonas* phenospecies and genospecies among strains isolated from water, foods or human clinical samples. Epidemiol Infect 1995, 115:39-50.
  14. Esteve C, Gutierrez MC, Ventosa A. *Aeromonas encheleia* sp. nov., isolated from European eels. Int J System Bacteriol 1995, 45:462-466.
  15. Gerard N, Stelma GR. *Aeromonas hydrophila*. In *Foodborne Bacterial Pathogens*. M. P. Doyle (ed.). Marcel, Dekker, Inc. New York and Basel 1989, 1-16.
  16. Palumbo SA, Williams AC, Robert LB, John GP. Model for the anaerobic growth of *Aeromonas hydrophila* K144. J Food Prot 1991, 55:260-265.
  17. Condon S, Garcia M, Otero A, Sala F. Effect of culture age, pre-incubation at low temperature and pH on the thermal resistance of *Aeromonas hydrophila*. J Appl Bacteriol 1993, 72:322-326.
  18. Palumbo SA, Williams AC, Buchanan RL, Phillips JG. Thermal resistance of *Aeromonas hydrophila*. J Food Prot 1987, 761-764.
  19. Santos J, Lopez-Diaz T, Garcia-Lopez M. Minimum water activity for the growth of *Aeromonas hydrophila* as affected by strain, temperature and humectants. Letters in Appl Microbiol 1994, 19:76-78.
  20. Varnam AH, Evans MG. *Foodborne pathogens*. An illustrated text. Wolfe Publishing Ltd, London. 1991, 185-200.
  21. Palumbo SA, Williams AC. Growth of *Aeromonas hydrophila* K144 as affected by organic acid. J. Food. Sci. Off. Publ. Inst. Food Technol. Chicago III.: The Institute. 1992, 233-235.
  22. Palumbo SA, Morgan DR., Buchanan RL. Influence of temperature, NaCl and pH on the growth of *Aeromonas*. J Food Sci III: Institute of Food Technol. 1985, 50:1417-1421.
  23. Stecchini ML, Sarais I, Milani S. The effect of incubation temperature sodium chloride and ascorbic acid on the growth of *Aeromonas hydrophila*. Letters in Appl Microbiol 1993, 17:238-241.
  24. Ozbas ZY, Vural H, Aytac SA. Combined effect of gamma-irradiation and conventional cooking on *Aeromonas hydrophila* in meatballs. Z Lebensm Unters Forsch 1996, 202:60-62.
  25. Golden DA, Mj. Eyles, LR. Beuchat. Influence of modified - atmosphere storage on growth of uninjured and heat - injured *Aeromonas hydrophila*. Appl Environ Microbiol 1989, 55: 3012-3015.
  26. Ingham, SC., Petter NN. Growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fragi* on mince and Surimis made from Atlantick Pollock and stored under air or modified atmosphere. J Food Prot 1988, 51: 966-970.
  27. Austin B, Allen-Austin D. A review. Bacterial pathogens of fish. J Appl Bacteriol 1985, 58: 483-506.
  28. Qian D, Chen Y, Shen J, Shen Z. Serogroups, virulence and hemolytic activity of *Aeromonas hydrophila* which caused fish bacterial septicemia. Wei Shseng Wu Hsueh Pao 1995, 35:460-464
  29. Valdivelv J, Puthuchery SD, Navaratnam P. Exotoxin profiles of clinical isolation of *Aeromonas hydrophila*. J Med Microbiol 1991, 34:363-367.
  30. Pansone AC, Lewis NF, Venugopal V. Characterization of extracellular proteases of *A. hydrophila*. Agric Biol Chem 1986, 50:1743-1749.
  31. Agger WA, McComick JD, Gurwith MJ. Clinical and microbiological features of *Aeromonas hydrophila* associated diarrhea. J Clin Microbiol 1985, 21:909-913.
  32. Goodwin CS, Harper WES, Stewart JK, Gracey M, Burka V, Robinson J. Enterotoxigenic *Aeromonas hydrophila* and diarrhea in adults. Med J Aust 1983, 25-26.
  33. Cumberbatch N, Gurwith MJ, Langston C, Sack RB, Brunton JL. Cytotoxic enterotoxin produced by *Aeromonas hydrophila*: Relationship of toxigenic isolates to diarrheal disease. Infect Immunol 1979, 23: 829-837.
  34. Tumbull PCB, Lee JV, Miliottis MD, Van DWS, Koornhof HJ, Jeffery L, Byrant TN. Enterotoxin production in relation to taxonomic grouping and source of isolation of *Aeromonas* species. J Clin Microbiol 1984, 19:175-180.
  35. Schubert RHW. *Aeromonads* and their significance as potential pathogens in water. Symposium supplement. J Appl Bacteriol 1991, 70:131s-135s.
  36. Holmberg SD, Farmer JJ. *Aeromonas hydrophila* and *Plesiomonas shigloides* as causes of intestinal infection. Rev Inf Dis 1984, 633-639.
  37. Agulla A, Garcia A, Alvare MD. Conjunctivitis caused by *Aeromonas hydrophila*. Enferm. Infect. Microbiol. Clin. 1997, 15:44-45.
  38. Abeyta C, Wekell MM. Potential sources of *Aeromonas hydrophila*. J Food Safety 1986, 11-22.
  39. Harris RL, Fainstein V, Elting L. Bacteremia caused by *Aeromonas* species in hospitalized cancer patients. Rev Infect Dis 1985, 314-320.
  40. Burke V, Robinson J, Gracey M, Peterson D, Partridge K. Isolation of *Aeromonas hydrophila* from a metropolitan water supply: seasonal correlation with clinical isolates. Appl Environ Microbiol 1984, 48:361-366.
  41. Dumavibhat B, Tiengpitak B, Srinkapibulays S, Nilakul C, Tuntimananich S. 1989. Hygienic status of food handlers. J Med Assoc Thai. 1989, 72:577-582.
  42. Gracy M, Burke V, Robinson J. *Aeromonas* associated gastroenteritis. Lancet. 11. 1982, 1304-1306.
  43. Mikhail IA, Fox E, Haberberger RL Jr, Ahmed, MH Abbatte EA. Epidemiology of bacterial pathogens associated with infectious diarrhea in Djibouti. J Clin Microbiol 1990, 28:956-961.
  44. Sethi Sk, Khuffash F. Bacterial and viral causes of acute diarrhoea in children in Kuwait. J Diarrhoeal Dis Res 1989, 85-88.



45. Molero X, Bartolome RM, Vinuesa T, Guarner L, Accarino A, Casellas F, Garcia R. Acute gastroenteritis due to *Vibrio parahaemolyticus* in Spain. Presentation of 8 cases. *Med Clin (Barc)* 1989, 92:1-4.
46. Ashiru JO, Salau T, Rotilu IO. Incidence of *Aeromonas* species in diarrhoeic stool in University College Hospital Ibadan, Nigeria. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 1993, 16:51-54.
47. Kumarasinghe G, Lim. YS, Chow C, Bassett DC. Prevalence of bacterial agents of diarrhoeal disease at the National University Hospital, Singapore and their resistance to antimicrobial agents. *Trop Geogr Med* 1992, 44:229-232.
48. Saelzer E, Munoz P, Pena A, Tellerias L, Fernandez A, Giglio M, DOttone K, Zapata L, Alarcón T, Pinto ME. Bacterial isolation infants hospitalized for acute diarrhea. *Rev Chil Pediatr* 1989, 60:328-333.
49. Gadri SM, Zafar M, Lee GC. An isolation of *Aeromonas hydrophila* from human feces. Have any clinical significance. *J Clin Gastroenterol* 1991, 13:537-540.
50. Deodhar CP, Saraswathi K, Varudkar A. *Aeromonas* spp. and their association with human diarrheal disease. *J Clin Microbiol* 1991, 28:853-856.
51. Haberberger RLJR., Mikhail IA, Burans JP, Hyams KC, Glenn JC, Diniega BH, Sorgen S, Mansour N, Blacklow NR, Woody JN. Travelers diarrhea among United States military Personnel during joint American Egyptian armed forces exercises in Cairo, Egypt. *Mil Med* 1991, 156:27-30.
52. Kain KC, Barteluck RL, Kelly MT, He X, De Hua G, Ge YA, Proctor EM, Byrne S, Stiver HG. Ethology of childhood diarrhea in Beijing, China. *J Clin Microbiol* 1991, 29:90-95.
53. Abeyta C, Kaysner CA, Wekell MM, Sullivan JJ, Stelma GN. Recovery of *Aeromonas hydrophila* from oysters implicated in an outbreak of Foodborne illness. *J Food Prot* 1986, 49:643-646.
54. Hazen TC, Fliermans CB, Hirsch RP, Esch GW. Prevalence and distribution of *Aeromonas hydrophila* in the United States. *Appl Environ Microbiol* 1987, 731-738.
55. Stelzer W, Jacob J, Feuerpfeil I, Schulze E. The occurrence of *Aeromonas* spp. in a drinking water supply system. *Zentralbl Mikrobiol* 1992, 147:231-235.
56. Burke V, Robinson J, Gracey M, Peterson D, Patridge K. Isolation of *Aeromonas hydrophila* from a metropolitan water supply: Seasonal correlation with clinical isolates. *Appl Environ Microbiol* 1984, 48:361-366.
57. Burke V, Robinson J, Gracy M, Peterson D, Meyer N, Haley V. Isolation of *Aeromonas* spp. from unchlorinated domestic water supply. *Appl Environ Microbiol* 1984, 48:367-370.
58. Slade PJ, Falah MA, Al-ghady AMR. Isolation of *Aeromonas hydrophila* from bottled water and domestic water supplies in Saudi Arabia. *J Food Prot* 1986, 49:471-476.
59. Handfield M, Simard P, Couillard M, Letarte R. *Aeromonas hydrophila* isolated from food and drinking water: haemagglutination, hemolysis, and cytotoxicity for a human intestinal cell line (HT-29). *Appl Environ Microbiol* 1996, 62:3459-3461.
60. Hanninen ML, Oivanen P, Hirvela-Koski V. *Aeromonas* species in fish, fish-eggs, shrimp and fresh water. *Int J Food Microbiol* 1997, 34:17-26.
61. Melas D., Papageorgiou D, Mantis A. Enumeration and confirmation of *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae* and *Aeromonas sobria* isolated from raw milk and other milk products in Northern Greece. *J Food Prot* 1999, 62:463-466.
62. Sierra ML, Gonzalez-Fandos E, Garcia-Lopez ML, Fernandez MCG, Prieto M. Prevalence of *Salmonella*, *Yersinia*, *Aeromonas*, *Campylobacter*, and cold-growing *Escherichia coli* on freshly dressed lamb carcasses. *J Food Prot* 1995, 58:1183-1185.
63. Schuman JD, Sheldon BW, Foegeding PM. Thermal resistance of *Aeromonas hydrophila* in liquid whole egg. *J Food Prot* 1997, 60:231-236.
64. Hudson JA, Delacy KM. Incidence of motile *Aeromonas* spp. in New Zealand retail foods. *J Food Prot* 1991, 54: 696-699.
65. Abeyta C, Weagant JSD, Kaysner CA, Wekell MM, Stott RF, Krane M H, Peeler JT. *Aeromonas hydrophila* in shellfish growing waters incidence and media evaluation. *J Food Prot* 1989, 52:7-12.
66. Doherty A, Sheridan JJ, Allen P, McDowell DA, Blair IS, Harrington D. Survival of *Aeromonas hydrophila* on modified atmosphere packaged normal and high pH lamb. *Int J Food Microbiol* 1996, 28:379-392.
67. Okrend JG, Rose BE, Bennett B. Incidence and toxigenicity of *Aeromonas* species in retail poultry, beef and pork. *J Food Prot* 1987, 50:509-513.
68. Fricker CR, Tompsett S. *Aeromonas* spp. in foods: A significant cause of food poisoning. *Int J Food Microbiol* 1989, 9:17-23.
69. McCoy RH, Pilcher KS. Peptone beef extract glucose Agar. A selective and differential *Aeromonas* medium. *J Fish Res Board Can* 1974, 31:1553-1555.
70. McCoy RH, Pilcher KS. Peptone beef extract glycogen agar, a selective and differential *Aeromonas* medium, *J Fish Res Board Can* 1974, 31:1553-1555.
71. Altorfer R, Altwegg M, Zollinger-Iten J, Von Graevenitz A. Growth of *Aeromonas* species of *cefsulodin-irgasan-novobiocin* agar selective for *Yersinia enterocolitica*. *J Clin Microbiol* 1985, 22:478-480.
72. Tsai GJ, Chen TH. Incidence and toxigenicity of *Aeromonas hydrophila* in sea food. *Int J Food Microbiol* 1996, 31:121-131.
73. Palumbo SA, Maxino F, Williams AC, Buchanan RL, Thayer DW. Starch-ampicillin Agar for the quantitative detection of *Aeromonas hydrophila*. *Appl Environ Microbiol* 1985, 50:1027-1030.
74. Ogaden ID., Millar, IG, Watt AS, Wood L A comparison of three identification kits for the confirmation of *Aeromonas* spp. *Letters in Appl Microbiol* 1994, 18:97-99.
75. Carnahan AM, Berham S, Joseph SW. Aerokey II: a flexible key for identifying clinical *Aeromonas* species. *J Clin Microbiol* 1991, 29:2843-2849.