

ARTÍCULO

Asociación de *Klebsiella spp.*, con síndrome diarreico agudo en niños de 0 a 2 años de edad.

Salus

Albarado Luzmila S., Evelin M. Flores, Germania Mendoza, Tahitiana Mundarain

RESUMEN

El significado clínico de especies de *Klebsiella*, tradicionalmente, ha sido limitado a neumonía pulmonar; sin embargo, se le ha asociado como causante de una gran variedad de infecciones, incluyendo gastrointestinales. Con el propósito de determinar la frecuencia de *Klebsiella spp.* asociada a síndrome diarreico agudo (SDA) en pacientes de 0 a 2 años de edad, se analizaron 142 muestras fecales de pacientes asistidos en el Servicio Autónomo Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá" de Cumaná, estado Sucre, durante julio 2002 a enero 2003. Del total de coprocultivos procesados, 94 (66,19%) resultaron positivos, y en 34 (23,94%) se desarrolló un crecimiento denso de *Klebsiella spp.*, no aislándose bacterias enteropatógenas. Al asociar la presencia de *Klebsiella spp.*, en niños con SDA, según edad y tipo de alimentación, se obtuvo 79,41% de frecuencia en pacientes alimentados con leche materna y en el grupo etario de 0 a 6 meses, siendo la asociación altamente significativa ($p < 0,05$) en ambos casos. La presencia de *Klebsiella spp.* en niños con SDA no dependió del sexo ($p > 0,05$). En el diagnóstico microbiológico de las diarreas, debe cuidarse la exclusión del rol patogénico de algunas bacterias, especialmente, *Klebsiella spp.*, no solo deben considerarse las bacterias clásicamente definidas como patógenos entéricos, sino valorar cambios cuantitativos en la microflora intestinal, tomando en cuenta características propias del paciente como la edad.

Palabras Clave: *Klebsiella spp.*, síndrome diarreico, diarrea infantil.

Departamento de Bioanálisis, Escuela de Ciencias.
Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre. Cumaná, Venezuela.

Correspondencia:

Calle Monagas, N° 37, Quinta Del Valle. Cumaná,
Estado Sucre. Código postal 6101.

E-mail: luzalv@hotmail.com

Telf. Hab.: +58-293-4322552.

Celular.: +58-414-7695633

Telfax.: +58-293-4317413.

Financiamiento:

Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente.

Recibido: Junio 2006 **Aprobado:** Agosto 2007

ABSTRAC

Relationship between *Klebsiella spp.* and Acute Diarrheic Syndrome in children 0-2 years old

The clinical importance of *Klebsiella* species has been traditionally limited to pulmonary pneumonias; however, it has been regarded as the agent of a large variety of infections including gastrointestinal ones. In order to determine the frequency of *Klebsiella spp.* associated with Acute Diarrheic Syndrome (ADS) in patients 0-2 years old, 142 faeces samples were studied from patients attending the Autonomous Service University Hospital "Antonio Patricio de Alcalá" in Cumaná city, Sucre State, from July 2002 to January 2003. Out of all the coprocultures processed, 94 (66, 19%) were positive; 34 (23, 94%) developed a dense *Klebsiella spp.* growth, with no isolated bacterial enteropathogens. Upon studying the relationship between the presence of *Klebsiella spp.* in children with ADS, and age and alimentary habits, 79.41% of frequency was found in breast-fed patients, and in the 0-6-month group, being this association highly significant ($p < 0,05$) in both cases. The presence of *Klebsiella spp.* in children with ADS was not related to sex ($p > 0,05$). In the microbiological diagnosis of diarrhoeas, the pathogenic role of some bacteria such as *Klebsiella spp.*, should not be overlooked; not just those bacteria classically defined as enteric pathogens should be considered, but also quantitative changes in the intestinal microflora must be evaluated, taking into consideration specific patient characteristics, such as age.

Key words: *Klebsiella spp.*, acute diarrheic syndrome, diarrhea infantile.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades diarreicas representan un problema de salud pública a nivel mundial, ocasionando elevada morbilidad y muerte, en particular en personas ancianas y niños menores de 5 años de edad. Se estima que de 4 a 6 millones de niños fallecen cada año por enfermedades diarreicas, especialmente, en países en vías de desarrollo, Asia y África (1, 2).

La diarrea se define como una enfermedad gastrointestinal que se manifiesta con un aumento en el número y cantidad de deposiciones, las cuales presentan un contenido de agua mayor a lo normal, tomando características macroscópicas de blandas a líquidas. La enfermedad diarreica puede ser clasificada de acuerdo al tiempo de evolución, en aguda cuando dura menos de 14 días y, persistente cuando oscila entre 14 y 30 días (3, 4).

Los principales agentes etiológicos de las diarreas son los virus, protozoarios y bacterias; entre éstas últimas, las más frecuentes pertenecen a los géneros *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia* y *Vibrio*, las cuales pueden transmitirse por la vía ano-mano-boca o por la ingesta de alimentos y aguas contaminadas (5).

La mayor parte de las diarreas infecciosas agudas son leves y autolimitadas, siendo la rehidratación oral el instrumento más efectivo en el tratamiento del síndrome diarreico. El conocimiento fisiológico de los mecanismos de transporte de los nutrientes en el intestino, constituye un aporte fundamental en el desarrollo de medidas terapéuticas para esta enfermedad (6).

En Venezuela, el problema de la diarrea aguda infantil se ha incrementado en los últimos años, calculándose 1,32 millones de episodios anuales de esta enfermedad; constituyendo la novena causa de muerte en la población y la segunda causa de mortalidad en pacientes menores de 4 años de edad (7).

En el estado Sucre, en un estudio realizado en niños menores de 5 años de edad con síndrome diarreico agudo, reportó como principales agentes causantes de infección intestinal a *E. coli* enteropatógena, seguida de *Campylobacter* sp. y *Salmonella* sp. (8). Del mismo modo, Albarado et al. (9) publicaron en una investigación realizada en niños menores de 6 años, que *E. coli* enteropatógena fue el agente principal de síndrome diarreico agudo, seguida en orden de frecuencia por *E. coli* enteroinvasiva, *Aeromonas* sp., *Salmonella* sp. y *Shigella* sp.

Otras especies bacterianas son consideradas agentes etiológicos de enfermedades gastrointestinales, en ocasiones, los cultivos primarios de heces de pacientes con diarreas muestran un crecimiento denso de microorganismos como enterococos, especies de *Pseudomonas* o *Klebsiella pneumoniae*, que en estas cantidades no forman parte de la microbiota normal del tracto gastrointestinal (1, 6).

El significado clínico de especies de *Klebsiella*, tradicionalmente, ha sido limitado a neumonía pulmonar; sin embargo, se ha visto que estos microorganismos son capaces de causar una gran variedad de infecciones, incluyendo brotes institucionales de diarrea infantil (10, 11). Kanareikina et al. (12) realizaron un estudio sobre la microflora patógena de la familia *Enterobacteriaceae* en dos grupos de niños, sanos y con infección intestinal aguda, hallando como principal diferencia entre ellos la presencia de las especies del género *Klebsiella* con un desarrollo abundante en los infantes enfermos.

En las últimas décadas, en diversos estudios a nivel mundial *Klebsiella* spp. se ha asociado como patógeno intestinal, especialmente, en pacientes menores de 6 años de edad (13, 14, 15, 16, 17). En Venezuela, es importante mencionar los estudios realizados por Urrestarazu et al. (18) quienes iden-

tificaron a *K. pneumoniae* como patógeno único aislado a partir de heces diarreicas en niños menores de 6 años de edad, ocupando el tercer lugar de los enteropatógenos más frecuentes (11,20%). Entre otras publicaciones, se puede mencionar la realizada por Vizcaya et al. (19), sobre el origen bacteriano de la enfermedad diarreica aguda en Mérida, Venezuela, en la cual se indica como enteropatógeno a *K. pneumoniae* con una frecuencia de 6,42%.

Por otra parte, es importante señalar estudios sobre las propiedades de patogenicidad de *Klebsiella* spp. Niyogi et al. (20) estudiaron la propiedad enteroagregativa de *Klebsiella pneumoniae*, observando que estas bacterias exhibieron adherencia agregativa con características distintas a la desarrollada por *E. coli*, apoyando con esto un nuevo mecanismo de virulencia asociado a la diarrea. Así mismo, se citan otros factores responsables de su patogenicidad, entre ellos: cápsula, fimbrias, adhesinas no fimbriales, lipopolisacáridos de la pared y exotoxinas extracelulares, proporcionándoles la habilidad para sobrevivir y diseminarse rápidamente, sobre todo en ambientes hospitalarios (11).

El presente estudio tuvo como propósito determinar la frecuencia de *Klebsiella* spp. asociada a síndrome diarreico agudo en pacientes de 0 a 2 años de edad, asistidos en la consulta pediátrica del Servicio Autónomo Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá" Cumaná, estado Sucre.

MATERIALES Y MÉTODOS

La muestra estuvo conformada por 142 niños entre 0 y 2 años de edad, con enfermedad diarreica aguda, asistidos en la consulta pediátrica del Servicio Autónomo Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá" de Cumaná, estado Sucre, durante el periodo comprendido de julio 2002 a enero 2003. Para el estudio, se seleccionaron aquellos pacientes que cumplieron con los siguientes criterios: cuadros de diarrea aguda con evolución no mayor de 72 horas, sin terapias antimicrobianas durante un lapso de tiempo menor de 72 horas previo a la toma de la muestra, sin estados de desnutrición severa, patologías congénitas, ni enfermedades inmunológicas.

A los representantes de los pacientes se les realizó una entrevista con el propósito de obtener autorización para incluirlos en la presente investigación y además, conocer datos personales y características clínicas. Este estudio no comprometió bajo ningún aspecto la salud o vida de los individuos que participaron en el mismo. Se consideraron las normas éticas establecidas por la Organización Mundial de la Salud para trabajos de investigación en seres humanos y la declaración de Helsinki, ratificada por la 52ª Asamblea General, Edimburgo, 2000 (21).

Recolección de la muestra: Se recolectaron muestras de heces mediante hisopado rectal, tomándose dos hisopos por

cada paciente, inmediatamente se colocaron en medio de transporte Cary-Blair (BBL) (22).

Método de coprocultivo: A través del método de coprocultivo se llevó a cabo el aislamiento e identificación de los géneros y especies bacterianas, utilizando medios bacteriológicos convencionales, según técnicas descritas por Koneman et al. (23), Mac Faddin (24), Manual Difco (25) y Prats (26). El estudio se inició sembrando la muestra contenida en uno de los hisopos en agar MacConkey (BBL), agar salmonella-shigella (BBL), y agar xilosa-lisina-desoxicolato (BBL), procediendo luego a proporcionar adecuadas condiciones de incubación con temperatura de 37°C y ambiente de aerobiosis por 24 horas. Además, se inoculó en caldo tetratonato (MERCK), como medio de enriquecimiento, en condiciones de incubación de 18 a 24 horas a 37°C, para luego sembrar en agar MacConkey y agar salmonella-shigella. Una vez cumplido el tiempo adecuado de incubación, se realizó la valoración de los cultivos primarios, se purificaron las colonias de interés y se les identificó bioquímicamente.

El estudio de las bacterias pertenecientes a las familias *Vibrionaceae* y *Aeromonadaceae*, se realizó siguiendo los esquemas de Janda et al. (27) y Satcher (28). Para ello, se inoculó un tubo con agua peptonada alcalina (pH 8,4) utilizando el segundo hisopo con muestra fecal, con el fin de incrementar el desarrollo de especies de los géneros *Vibrio*, *Aeromonas* y *Plesiomonas*, este caldo fue incubado a una temperatura de 37°C durante un período de tiempo de 4 a 6 horas en condiciones de aerobiosis; luego, se sembró en agar nutritivo, agar tiosulfato-citrato-sales biliares-sacarosa (BBL), agar ampicilina almidón y agar inositol-sales biliares-verde brillante, los medios fueron incubados a una temperatura de 37°C, en condiciones de aerobiosis por 24 a 48 horas. Cumplido el tiempo adecuado de incubación, se procedió a valorar las colonias obtenidas en los cultivos primarios, y a purificar las colonias de interés para su identificación bioquímica. El control de calidad aplicado para evaluar la caracterización bioquímica, se realizó utilizando la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883.

Análisis estadístico. Los resultados obtenidos fueron representados a través de tablas de contingencia; además, se utilizó la prueba de Chi-cuadrado (χ^2), a un nivel de confiabilidad del 95% (29), para determinar la asociación entre la presencia de *Klebsiella spp.*, en niños de 0 a 2 años de edad con manifestaciones clínicas de síndrome diarreico agudo, con tipo de alimentación, edad y sexo, para ello se empleó el programa estadístico STATGRAPHICS Plus versión 5.0.

RESULTADOS

Se analizaron 142 muestras de heces, de las cuales 94 resultaron positivas, lo que representa 66,19% de especies bacterianas asociadas a la etiología del síndrome diarreico. Del

total de coprocultivos procesados, en 34 (23,94%) casos se desarrolló un crecimiento denso de *Klebsiella spp.*

Al asociar la presencia de *Klebsiella spp.*, con el tipo de alimentación, el análisis estadístico resultó altamente significativo ($p=0,0083 < p=0,05$); observándose mayor frecuencia (79,41%) de especies de *Klebsiella* en niños alimentados con leche materna (Tabla 1).

Tabla 1. Asociación de *Klebsiella spp.*, con el tipo de alimentación en niños de 0 a 2 años de edad con síndrome diarreico agudo

Tipo de alimentación	Casos positivos				Casos negativos		Total	
	<i>Klebsiella spp.</i>		Otros patógenos		n	%	n	%
	n	%	n	%				
Leche materna	27	79,41	28	46,67	28	58,33	83	58,45
Alimentación balanceada	7	20,59	32	53,33	20	41,67	59	41,55
Total	34	23,94	60	42,25	48	33,80	142	100,00

$$\chi^2 = 9,58; p = 0,0083$$

Se destaca que la frecuencia de *Klebsiella spp.*, como único agente bacteriano aislado en niños con cuadros diarreicos agudos, disminuye notablemente a medida que la edad se incrementa, especialmente, a partir de los 7 meses (Tabla 2); los resultados indican que el grupo etario de 0 a 6 meses mostró una muy alta frecuencia (79,41%) de *Klebsiella spp.*, y la asociación de su presencia en niños con diarrea fue altamente significativo ($p=0,0074$)

Tabla 2. Asociación de *Klebsiella spp.*, con el grupo etario en niños de 0 a 2 años de edad con síndrome diarreico agudo

Grupo etario (meses)	Casos positivos				Casos negativos		total	
	<i>Klebsiella spp.</i>		Otros patógenos		n	%	n	%
	n	%	n	%				
0 a 6	27	79,41	26	43,33	28	58,33	81	57,04
7 a 12	5	14,71	16	26,67	13	27,08	34	23,94
12 a 24	2	5,88	18	30,00	7	14,58	27	19,01
Total	34	23,94	60	42,25	48	33,80	142	100,00

$$\chi^2 = 13,96; p = 0,0074$$

La frecuencia de *Klebsiella spp.*, en niños con diarrea aguda fue mayor en el sexo femenino (55,88%). Al aplicar la prueba de Chi-cuadrado, el análisis arrojó un valor $p=0,8376$, siendo estadísticamente no significativo ($p>0,05$), revelándose con ello que la presencia de *Klebsiella spp.*, en niños con cuadros de síndrome diarreico agudo no dependió del sexo (Tabla 3).

Tabla 3. Asociación de *Klebsiella spp.*, con el sexo en niños de 0 a 2 años de edad con síndrome diarreico agudo.

Sexo	Casos positivos				Casos negativos		total	
	<i>Klebsiella spp.</i>		Otros patógenos		n	%	n	%
	n	%	n	%				
Femenino	19	55,88	30	50,00	26	54,17	75	52,82
Masculino	15	44,12	30	50,00	22	45,83	67	47,18
Total	34	23,94	60	42,25	48	33,80	142	100,00

$$\chi^2 = 0,35; p = 0,8376$$

DISCUSIÓN

El factor infeccioso ha sido señalado como una de las causas más importantes de las enfermedades diarreicas, por su carácter contagioso. En el presente estudio, este hecho se reafirma una vez más al encontrar que el 66,19% de los casos fue positivo al análisis bacteriológico, resultados similares a los reportados por Albarado et al. (9), Vizcaya et al. (19), Alcalde et al. (30) y Nimri y Meqdam (31).

Klebsiella spp., se recuperó como aislados puros y predominantes a partir de las heces de niños con diarrea aguda con una frecuencia importante (23,94%). Análogo a la presente investigación, un artículo divulgado por Kiseleva et al. (13), reveló la asociación etiológica entre *Klebsiella spp.* y la diarrea aguda en niños, hallando una frecuencia de 22,3% de este género bacteriano en el grupo evaluado. Del mismo modo, otros investigadores han asociado especies de *Klebsiella* con infección intestinal en niños. Bondarenko et al. (14), en un estudio que se llevó a cabo en 266 niños menores de 1 año con diarrea aguda, publicaron una frecuencia de 49,62% de *Klebsiella spp.*, Posteriormente, Ise et al. (15) en una investigación realizada en Santa Cruz Bolivia, analizaron 211 muestras de heces en niños con diarrea, observando que el mayor patógeno bacteriano fue *E. coli* enteropatógena e identificaron entre otros agentes etiológicos a *Klebsiella spp.*, Más recientemente, el-Sheikh y el-As-souli (16) en una investigación efectuada en Arabia Saudita sobre prevalencia de enteropatógenos virales, bacterianos y parasitarios en niños de 0 a 5 años, reconocieron como patógeno de diarrea aguda a *Klebsiella pneumoniae*, con una prevalencia de 4,0%. Simultáneamente, Valiente y Mora (17), en un estudio en Costa Rica sobre enteropatógenos en niños con diarrea aguda, aislaron a este microorganismo con una frecuencia de 14,0%.

En reportes recientes del Instituto Nacional de Salud de San Martín, Perú (32), se publicó un brote de síndrome diarreico agudo en niños, reportando como únicos agentes asociados a la enfermedad, *Klebsiella spp.* y especies patógenas de *E. coli*.

En el presente trabajo de investigación la presencia de *Klebsiella spp.* en niños con diarrea fue relacionada con el tipo de alimentación, hallándose asociación altamente significativa ($p = 0,0083 < p = 0,05$), en donde 79,41% de las especies de *Klebsiella* fueron aisladas en niños alimentados con leche materna, de igual manera la mayor frecuencia de aislados de *Klebsiella spp.* correspondió al grupo etario de 0 a 6 meses de edad, con 79,41% y la asociación de su presencia en niños con diarrea fue altamente significativo ($p = 0,0074 < p = 0,05$). Estas asociaciones guardan relación con los reportados por Torbicka et al. (33), en una investigación sobre la etiología bacteriana de diarrea en niños de 7 días a 18 meses, donde encontraron que los patógenos entéricos principalmente aislados fueron *Klebsiella spp.* y *E. coli* enteropatógena, especialmente, en los primeros 6 meses de vida. En este mismo orden de ideas, Moniuk et al. (34), estudiaron en un grupo de niños de 0 a 2 años de edad la epidemiología de infecciones gastrointestinales, obteniendo que el mayor número de pacientes con diarrea se presentó durante el primer trimestre de vida, *E. coli* aglutinante serogrupo A y *Klebsiella pneumoniae* se aislaron con mayor frecuencia.

En el grupo etario de 0 a 6 meses de edad, los niños son alimentados exclusivamente con leche materna; no obstante, la asociación puede deberse no propiamente al tipo de alimentación ni a la edad, sino a condiciones propias del individuo. Kiseleva et al. (13) sugieren que la etiología de la diarrea aguda por especies de *Klebsiella* se establece por condiciones definidas como la presencia de otras enfermedades de base y tratamientos antimicrobianos prolongados. La colonización fecal por *K. pneumoniae* en el tracto gastrointestinal de neonatos ha sido publicado por varios autores, citándose altos porcentajes de colonización que oscilan entre 53,00 y 66,00% (35).

Es posible inferir que la instauración de la infección intestinal en niños hasta 2 años de edad por *Klebsiella spp.*, viene precedida por una colonización; sin embargo, tiene que existir una condición inmunológica. En esta etapa de la vida, los mecanismos de defensa apenas empiezan a desarrollarse, además la flora del tracto gastrointestinal no se ha implantado totalmente, constituyendo ésta probablemente la mejor protección de la mucosa intestinal, al interferir con las bacterias de paso potencialmente patógenas e impedir su proliferación; esta situación, puede ser aprovechada por la bacteria y así causar el síndrome diarreico, comportándose como un patógeno oportunista. Otra condición que podría favorecer el desencadenamiento de la enfermedad es la ausencia de IgA secretora en el recién nacido y en el lactante menor de 3 meses de edad, la IgA secretora específica del ambiente microbiano, le confiere capacidad inmunitaria y necesita ser proporcionada por la leche materna (36).

El aislamiento de *Klebsiella spp.* en niños con cuadros de diarrea aguda no estuvo asociada al sexo ($p = 0,8376 > p = 0,05$) aunque su frecuencia fue mayor en el sexo femeni-

no (55,88%). Si bien, no existen publicaciones de asociación de *Klebsiella spp.*, con respecto al sexo en menores de 2 años de edad con diarrea aguda, estos resultados pueden relacionarse por los reportados por Vizcaya et al. (19), quienes al analizar estadísticamente el parámetro sexo, con respecto a la frecuencia de la diarrea infecciosa, éste no presentó relación significativa ($p > 0,05$). Contrario a ello, se ha publicado que la frecuencia de diarrea es altamente significativa en menores de 5 años del sexo masculino (2).

Actualmente, se reconoce que *Klebsiella spp.*, está asociada a la etiología de diarreas en los primeros dos años de vida. En este sentido, el papel patogénico de esta bacteria juega un rol importante y se ha asociado a toxinas termolábiles que están biológica, antigénica y genéticamente relacionadas a la toxina termolábil de la familia cólera-coli (37). Avances recientes, involucran además otros factores responsables de su patogenicidad, entre ellos la cápsula, fimbrias, adhesinas no fimbriales y lipopolisacáridos de la pared (11, 38).

CONCLUSIONES

En el diagnóstico de diarrea aguda inducida por bacterias oportunistas, especialmente, especies de *Klebsiella*, el microbiólogo debe ser más cuidadoso en excluir el rol patogénico de algunas bacterias, ya que no sólo debe considerar las bacterias clásicamente definidas como patógenos entéricos, sino valorar cambios cuantitativos en la microflora intestinal, tomando en cuenta características propias del paciente como la edad. Por otro lado, se hace interesante el ensayo de nuevos trabajos de investigación orientados al estudio de las propiedades de patogenicidad de las especies de *Klebsiella* aisladas de muestras fecales de niños con síndrome diarreico agudo, empleando técnicas inmunológicas y moleculares que aporten datos que permitan aclarar la controversia existente hoy en día con respecto a este microorganismo y así poder definirlo como un agente enteropatógeno en niños menores de 2 años.

Agradecimientos Los autores desean expresar su agradecimiento a aquellas personas que participaron en este estudio en forma voluntaria, asimismo, al personal del servicio de pediatría SAHUAPA, y en forma especial al Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, por el apoyo financiero en el Proyecto N° CI-5-1005-0981/01.

BIBLIOGRAFÍA

1. Forbes B., Sahn D. y Weissfeld A. (2004). Bailey & Scott. Diagnóstico microbiológico. Décima primera edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, 992-1010.
2. D Agtini M., Soeharno R., Lesmana M., Punjabi N., Simanjuntak C., Wangsasaputra F., Nurdin D., Pulungsih S., Rofiq A., Santoso H., Pujarwoto H., Sjahrurachman A., Sudarmono P., von Seidlein L., L Deen J., Ali M., Lee H., Kim D., Han O., Park J., Suwandono A., Ingerani Oyoyo B., Campbell J., Beecham H., Corwin A. y Clemens J. The burden of diarrhoea, shigellosis, and cholera in North Jakarta, Indonesia: findings from 24 months surveillance. BMC Infect. Dis. 2005; 5: 89.
3. Rossomando A., La Riva L., Lestón J., Delfín T. y Rodríguez J. Síndrome disentérico en niños, serie de casos. Arch. Ven. Pueri. Pedi. 1999; 62: 132-137.
4. Urrutia J. Diarrea con sangre. Diál. Pedi. 1997; 13: 79-164.
5. Olarte J. Etiopatogenia de las diarreas infecciosas. Bio. Med. Hosp. Infant. Me. 1998; 42: 266-271.
6. Schaechter M., Medoff G., Eisenstein B. y Guerra H. (1994). Mecanismos de las enfermedades infecciosas. Enfoque mediante resolución de problemás. Segunda edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, 729-749.
7. Rincón G., Ginestre M., Harris B., Romero S. y Martínez A. Frecuencia de bacterias enteropatógenas en niños menores de 5 años. Kasmera. 2002; 30: 33-41.
8. Araque Y. y Bastardo J. Estudio bacteriológico de la diarrea aguda infantil en Cumaná- estado Sucre. Saber. 1999; 11: 45-54.
9. Albarado L., Samper I. y Guzmán M. *Aeromonas spp.* como agente causal de síndrome diarreico agudo en niños menores de 6 años de edad. Kasmera. 2005; 33: 7-15.
10. Brown C. y Seidler R. Potential Pathogens in the Environment: *Klebsiella pneumoniae*, a taxonomic and ecological enigma. Appl. Microbiol. 1973; 25: 900-904.
11. Maczynska B., Smutnicka D., Matusiewicz K., Przondo A. y Burdynowski K. Adhesive properties and antibiotic resistance of *Klebsiella* strains isolated from gastrointestinal tracts of children hospitalised in Wrocław nad Opole. Med. Dosw. Mikrobiol. 2003; 55: 333-342.
12. Kanareikina S., Levita E., Polferov V., Feklisova L., y Novokshonova V. Conditionally pathogenic microflora of the Enterobacteriaceae family of healthy young children and children with acute intestinal infections of unknown etiology. Zh Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 1981; 4: 82-85.
13. Kiseleva M., Nikulenkova T. y Kuznetsova L. Etiologic role of *Klebsiella* in children with acute intestinal diseases. Zh Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 1976; 3: 50-52.
14. Bondarenko V., Barkus M., Brilis V. y Lentsner A. Hemagglutinating and adhesive capacities of *Klebsiella* and Enterobacter strains. Zh Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 1987; 7: 3-6.
15. Ise T., Tanabe Y., Sakuma F., Jordan O., Serrate E. y Pena H. Clinical evaluation and bacterial survey in infants and young children with diarrhoea in the Santa Cruz district, Bolivia. J Trop. Pediatr. 1994.; 40: 369-374.
16. el-Sheikh S. M., el-Assouli S. M. Prevalence of viral, bacterial and parasitic enteropathogens among young children with acute diarrhoea in Jeddah, Saudi Arabia. J Health Popul. Nutr. 2001; 19: 25-30.
17. Valiente C. y Mora D. Microorganismos patógenos en niños con diarreas agudas en Costa Rica. Rev. Chil. Pidiatr. 2001; 60: 328-333.

18. Urrestarazu M., Darricarrere R., Pérez M., Daoud G., Serrano N. y Cavazza M. Frecuencia de *Campylobacter jejuni* y otros agentes patógenos en un grupo de lactantes venezolanos con diarrea aguda. Bol. of Sanit. Panam. 1987; 104: 225.
19. Vizcaya D.; Flores C.; Hernández J.; Bianco B. y Pérez I. Origen bacteriano de la enfermedad diarreica aguda en Mérida, Venezuela. Rev. Cubana Med. Trop., 1999; 51: 14-19.
20. Niyogi S.K., Pal A., Mitra U. y Dutta P. Enteroaggregative *Klebsiella pneumoniae* in association with childhood diarrhoea. Indian J Med. Res. 2000; 112: 133-134.
21. De Abajo, F. La Declaración de Helsinki VI. Rev. Españ. Salud Púb. 2001; 75: 407-420.
22. Carmona O., Gómez M., Mariño F., Montes T. y Marcano C. (1997). Microbiología médica de Divo. Quinta edición. McGraw-Hill Interamericana. Caracas, 445.
23. Koneman E., Allen S. y Janda W. (1999). Diagnóstico microbiológico. Quinta edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, 2400.
24. Mac Faddin J. (1988). Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, 301.
25. Manuel Difco (1984). Medios de cultivo deshidratados y reactivos para bacteriología. Décima edición. Detroit, 1116.
26. Prats, Guillem. (2006). Microbiología clínica. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, 39-47.
27. Janda J., Abbott S. y Carnaham A. (1995). *Aeromonas* and *Plesiomonas*. En: Manual of clinical microbiology. Baron E., Faller M., Tenover C. y Tenover R. Quinta edición. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 447-482.
28. Satcher D., James M., Mitchell L. y Guerra C. (1994). Método de laboratorio para el diagnóstico de *Vibrio cholerae*. Edición en español, Programa Especial de Publicaciones, OPS, 148.
29. Sokal R. y Rohlf F. (1979). Biometría principios y métodos estadísticos en investigación biológica. H. Blume editorial. Barcelona, 832.
30. Alcalde M., Gómez L., Carrascal A., Blanco A., Marcos H., Bedate P., González A. y Jiménez E. Gastroenteritis aguda en pacientes hospitalizados. An. Españ. Pediatr. 2002; 56: 104-110.
31. Nimri L. F. y Meqdam M. Enteropathogens associated with cases of gastroenteritis in a rural population in Jordan. Clin. Microbiol. Infect. 2004; 10: 634-639.
32. Boletín Instituto Nacional de Salud del Perú. Año 2 n° 26. 2005; 1-5.
33. Torbicka E., Meisel-Mikolajczyk F., Rafalowska K., Czerniak E. y Brzozowska A. Bacterial etiological factors of diarrhea in the stool of infants hospitalized in January 1987. Przegl. Epidemiol. 1989; 43: 366-372.
34. Moniuk O., Torbicka E., Zawistowska E., Chyczewska A., Tomyn M., Brzozowska A., Roszkowska L., Opania A. y Gorynski P. Epidemiologic problems of gastrointestinal infections in children 0 to 2 years of age. Wiad Lek. 1989; 42: 567-571.
35. Desimoni M., Esquivel G. y Merino L. Colonización fecal por cepas de *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido en una Unidad Neonatal de Cuidados Intensivos. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 2004; 22: 507-511.
36. Chapoy P. 1ra. Conferencia-El ecosistema intestinal del niño. Arch.Ven. Puer. Ped., 1990; 53: 12-17.
37. Panigrahi D., Roy P. y Chakrabarti A. Enterotoxigenic *Klebsiella pneumoniae* in acute childhood diarrhoea. Indian J Med. Res. 1991; 93: 293-296.
38. Pal A., Hoque K.M., Niyogi S.K., Ramamurthy T., Nair G.B., Bhattacharya S.K. y Chakrabarti M.K. Rise in free intracellular calcium in HeLa cells infected with aggregative *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from cases of diarrhoea. Indian J Med. Res. 2001; 113: 1-4.