

Perfil clínico y microbiológico de las infecciones entéricas por *Yersinia enterocolitica* en niños de Santiago, Chile

Valeria Prado J.¹; Catherine Ferreccio R.²; Myron M. Levine³;
J. Glenn Morris Jr.³; Katina Marinkovic G.¹; Marisol Cayazzo C.²; René Reyes A.⁴

Clinical and microbiological aspects of *Yersinia enterocolitica* enteric infections in children from Santiago, Chile

Yersinia enterocolitica is a common cause of endemic enteric infections in industrialized countries of Europe and in the USA. Little information on Yersiniosis is available from South America. This study was intended to determine the incidence and clinical pattern of enteric infections caused by *Y. enterocolitica* in three cohorts of children, the first one of 360 subjects under 4 years of age followed along a two year period, and another two cohorts made of 144 newborn infants each, which were followed from april 1987 throughout february 1990 and from october 1989 throughout february 1990 respectively, all from a low socio-economic status neighborhood at Santiago, Chile. Children were prospectively surveilled by bi-weekly home visits. Two stool samples were obtained during each diarrheal episode and from matched asymptomatic control subjects. From february 1987 throughout january 1990, 1 795 diarrheal episodes were recorded and studied. Incidence of *Y. enterocolitica* was 1.4% among patients with diarrhea and 0.3% among 1 780 controls ($p < 0.005$). Clinical symptoms associated to *Y. enterocolitica* were not pathognomonic and consisted in liquid stools with or without mucus, absence of blood in stools (none in 26 cases), and fever, which was detected in 26.9% of the cases, but persistent diarrhea (lasting > 14 days) occurred in 11.5% of the patients. All cases were treated as outpatients and their outcome was good. Most isolated *Y. enterocolitica* strains belonged to serotype O:3, byotype 4 (73%); other isolated serotypes included O:7:8, O:10 and O:6. We did not observe a clearly defined seasonal predominance although 50% of cases occurred in winter months. *Y. enterocolitica* was an infrequent cause of acute diarrhea (1.4%) in Santiago. Because it was frequently associated with persistent diarrhea, an adequate work up for this organism using selective media should be considered in all cases with diarrheal disease.

(Key words: *Yersinia enterocolitica*, enteric infection, diarrhea.)

Yersinia enterocolitica, una enterobacteria capaz de producir enfermedades en el hombre y en varias especies animales, aparece como causa frecuente de infecciones entéricas en niños y adultos en países desarrollados. Comunicaciones canadienses, estadounidenses y alemanas la señalan como agente importante de diarrea endémica infantil, con frecuencias de aislamiento superiores a las de otros patógenos enterales como *Shigella* y, además, como respon-

sable de brotes de gastroenteritis asociada a ingestión de alimentos contaminados¹⁻⁴.

En niños preescolares y adultos, *Y. enterocolitica* es capaz de producir linfadenitis mesentérica que clínicamente puede simular apendicitis aguda, septicemia, abscesos hepáticos o espléncicos, y procesos autoinmunes como eritema nodoso o artritis reactiva².

Hay escasa información disponible acerca de la incidencia y de la epidemiología de las infecciones por *Y. enterocolitica* en países en vías de desarrollo. Algunos estudios describen incidencias entre 0 y 1% en pacientes con diarrea, muy inferiores a las de otras bacterias enteropatógenas como *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) y enterotoxigénica (ETEC), *Shigella* y *Campylobacter*. En un estudio desarrollado

1. Unidad de Microbiología, Campus Oriente, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
2. GREDIS, Universidad de Maryland.
3. Centro de Desarrollo de Vacunas, Universidad de Maryland.
4. Ayudante-alumno de Microbiología, Campus Oriente.

en Santiago el año 1980, en niños hospitalizados por diarrea aguda, la frecuencia con que aislamos *Yersinia enterocolitica* fue 1%, utilizando enriquecimiento en solución salina tamponada⁵. El clima parece ser un factor importante, pues la incidencia es muy baja en países tropicales^{6,7}, lo cual podría tener explicación en el hecho de que *Y. enterocolitica* se multiplica mejor a temperaturas de 24°C o inferiores. La menor frecuencia relativa en países en desarrollo de clima templado, que en otros más desarrollados con el mismo clima, podría deberse a subestimaciones de la magnitud de las infecciones por *Yersinia enterocolitica* en los primeros, dado que su aislamiento requiere de personal de laboratorio adiestrado, medios selectivos especiales y condiciones adecuadas de tiempo de incubación y temperatura.

Yersinia es una bacteria ubicua, se encuentra en alimentos y aguas y es un patógeno zoonótico, con un amplio reservorio animal. Existen cerca de 50 serotipos diferentes de *Y. enterocolitica*; sin embargo, no todos producen infección en el hombre. Las cepas aisladas de procesos mórbidos pertenecen a un número reducido de serotipos, denominados O:1,2a,3, O:3, O:5, 27, O:7, O:8, O:9 y O:16. En Europa predomina el serotipo O:3 y el O:8 en Norteamérica⁸. Se distinguen, además, 7 biogrupos de *Y. enterocolitica*, de acuerdo al esquema de Wauters. Dentro de estos últimos, los biogrupos 1B hasta el 5 corresponden, generalmente, a las cepas asociadas a infecciones humanas⁹.

Las cepas patógenas para el hombre se caracterizan fisiológicamente por ser pirazinamidasa negativas y poseer un plásmido relacionado con la virulencia (pYV), que codifica la expresión de diversas características involucradas con la capacidad de adherencia, invasividad y persistencia dentro de los macrófagos¹⁰. La presencia de este plásmido confiere también a las colonias la capacidad de captar colorantes como el cristal violeta o el rojo Congo, debido a la modificación de las proteínas de la membrana externa de *Yersinia enterocolitica*¹¹⁻¹³. Otros factores de patogenicidad se relacionan con la presencia de genes cromosomales *ail* e *inv*, que determinan capacidad de invadir células epiteliales¹⁴.

El propósito de este estudio fue determinar la frecuencia de las infecciones intestinales producidas por *Yersinia enterocolitica* en tres cohortes de niños menores de 4 años de una comu-

nidad de estrato socioeconómico bajo de Santiago, describir los rasgos clínicos de dichas infecciones, caracterizar las cepas aisladas desde el punto de vista microbiológico y patogénico y conocer algunos aspectos de la epidemiología de las infecciones por *Yersinia enterocolitica* en Chile.

Material y Métodos

Entre febrero de 1987 y enero de 1990, como parte de un proyecto de estudio de diarrea aguda, fueron sometidos a vigilancia activa tres cohortes de niños que viven en el sector Santa Julia, del área Oriente de Santiago, pertenecientes a familias de escasos recursos. La primera cohorte estaba formada por 360 niños, estratificados de 0 a 4 años (dos terceras partes eran mayores de un año), que fueron seguidos durante dos años, 330 de los cuales continuaban en el estudio al cabo de un año de seguimiento y 311 después de dos años. En abril de 1987 se inició el seguimiento de la segunda cohorte, formada por recién nacidos incorporados a ella en número de 12 cada mes hasta completar la cantidad de 144 niños, los que permanecieron en estudio hasta febrero de 1990. En octubre de 1989 se incorporó una tercera cohorte, también constituida por recién nacidos, que también llegó a 144 niños estudiados hasta febrero de 1990.

Todos los niños aludidos fueron visitados en su domicilio dos veces por semana por un equipo de enfermeras y auxiliares para detectar episodios de diarrea. Se consideró un episodio de diarrea la evacuación de deposiciones de consistencia más líquida que lo normal y con una frecuencia superior a 3 al día. En cada episodio de diarrea se tomaron dos muestras de deposición, cada una en días consecutivos, mediante hisopado rectal del caso y de un niño control, pareado por edad y sexo, perteneciente a la misma cohorte, que no tuviese diarrea y estuviese previamente codificado. Las características del cuadro clínico fueron consignadas en una hoja de registro de datos. De esta manera, en el periodo referido, se estudiaron 992 episodios de diarrea en la cohorte de niños menores de 4 años, 803 en las cohortes de recién nacidos, así como 985 y 795 estudios de controles en las cohortes de 0 a 4 años y de recién nacidos, respectivamente, efectuando un total de 7 150 coprocultivos (se estudiaron dos muestras por paciente). Las muestras fueron transportadas al laboratorio en solución tamponada con glicerol y en medio Cary Blair, donde fueron sembradas en agar McConkey, KLD y SS, incubadas a 37°C; las muestras de las cohortes de recién nacidos (288 niños) fueron, además, sembradas en agar *Yersinia* (CIN) y estas placas incubadas a 25°C por 48 h. Las colonias con características morfológicas de *Yersinia* fueron tipificadas por especie, siguiendo criterios internacionalmente aceptados, y biotipificadas según técnica de Wauters⁹. La seroagrupación se efectuó mediante reacciones de aglutinación utilizando antiseros comerciales (PROBAC, Brasil) y una serotipificación más completa se realizó en la Universidad de Maryland, utilizando antiseros gentilmente proporcionados por el Dr. G. Wauters, de

la Universidad Católica de Lovaina. La presencia del plasmidio de virulencia se estudió en todas las cepas mediante técnica tintorial de cristal violeta¹⁵. En un grupo de cepas de *Yersinia* la presencia del plasmidio pYV también se estudió mediante una sonda genética que detecta un fragmento de 2,8 Kb del pYV. Dicho fragmento fue clonado en la Universidad de Maryland en un plasmidio pCVD788, el que a su vez fue cortado en nuestro laboratorio con la enzima BamHI para obtener la sonda, la cual se marcó con biotina para efectuar hibridación con las colonias mediante la técnica de "colony blot" (estampado de colonias)¹⁶.

En todas las cepas aisladas en este período se estudió la sensibilidad a los siguientes antimicrobianos: ampicilina, cefalotina, cloramfenicol, cotrimoxazol, enoxacina, gentamicina y ceftriaxona, mediante la técnica de Kirby Bauer, y se determinó la producción de beta-lactamasa mediante la técnica rápida de discos impregnados con nitrocefina¹⁷.

Resultados

Incidencia: En once de los 993 episodios de diarrea registrados en la primera cohorte, de 360 niños de 0 a 4 años, se aisló *Y. enterocolitica*, frecuencia 1,1%, mientras que entre 985 controles pareados por edad la frecuencia de aislamiento fue 0,1% (un caso). El promedio de edad de los niños que presentaron infecciones entéricas por *Yersinia enterocolitica* fue de 33,1 meses en el grupo con diarrea (márgenes 14 a 59 meses). El único control de este grupo en que se aisló *Y. enterocolitica* tenía 36 meses de edad.

En las cohortes de recién nacidos, todos menores de tres años al completar el seguimiento

y en gran proporción menores de un año, la frecuencia de aislamientos de *Y. enterocolitica* fue 1,9% en casos de diarrea y 0,7% en controles ($p \leq 0,005$). En este grupo el promedio de edad de los niños con diarrea asociada a *Y. enterocolitica* fue 13,8 meses y en los controles 21,6 meses.

Considerando el total de 1 795 episodios de diarrea estudiados en las 3 cohortes, la incidencia de *Y. enterocolitica* fue de 1,4% (26 casos); en los controles pareados de esos 26 casos no se aisló *Y. enterocolitica* y la incidencia en el total de controles fue 0,3% ($p \leq 0,005$). Las infecciones por *Yersinia* fueron más frecuentes en los niños de 7 a 24 meses (tabla 1).

En lo que respecta a las características clínicas de la diarrea asociada a *Yersinia enterocolitica* (tabla 2), los pacientes presentaban deposiciones líquidas o líquidas mucosas y en ningún caso se observó síndrome disentérico. Es interesante que el único caso de disentería con fiebre por *Y. enterocolitica* ocurrió fuera de nuestras cohortes, en un familiar de 13 años. La duración promedio de la diarrea fue 9,4 días, pero 3 episodios (11,5%) duraron más de 14 días, constituyendo diarrea prolongada o persistente. En general la diarrea fue de moderada severidad, sin deshidratación, con fiebre en 26,9% de los casos, todos los cuales fueron manejados ambulatoriamente por los pediatras de consultorio. En ninguno de los pacientes se consignó dolor abdominal.

Tabla 1

Incidencia de *Yersinia enterocolitica* en casos de diarrea y controles
Santa Julia 1987-1990

Edad Meses	Episodios 3 cohortes	Aislamiento <i>Yersinia enterocolitica</i>		Total controles
		Casos n %	Controles pareados	
10 - 16	227	1 (0,4)	0	0
17 - 12	322	8 (2,5)	0	1
13 - 24	593	10 (1,7)	0	2
25 - 36	294	2 (0,7)	0	3
37 - 59	345	5 (1,4)	0	0
> - 60	14	0 (0,0)	0	0
Total	1 795	26 (1,4)	0	6
Denominador	1 795	1 795	1 780	1 780
Incidencia		1,4%	0%	0,3%

Tabla 2

Características clínicas de la diarrea asociada a <i>Y. enterocolitica</i> en 26 niños	
1. Edad	
Promedio	32,4 meses
Rango	6 - 59 meses
2. Sexo	
Hombres	13
Mujeres	13
3. Estado nutricional	
Eutróficos	23
Desnutridos	3
4. Aspecto de deposiciones	
Líquidas	14
Líquidas/mucus	11
Mucosas	1
Sangre/pus	0
5. Duración de diarrea*	
Promedio (días)	9,4
Rango	3 -29
6. Frecuencia	3,4 deposiciones/día
7. Deshidratación	
Presente	0
Ausente	26
8. Fiebre	
Presente > 38°C	7
Ausente	18
9. Vómitos	3
10. Dolor abdominal	0

* 3 episodios diarrea prolongada.

En los 802 episodios de diarrea de las cohortes de recién nacidos y sus 795 controles se efectuó la búsqueda sistemática de otros agentes causantes de diarrea: *E. coli* enteropatogénico (ECEP), *E. coli* enterotoxigénico (ECET), *E. coli* enteroinvasor (ECEI), *E. coli* enterohemorrágico (ECEH), *Salmonella*, *Shigella*, *Aeromonas*, *Campylobacter*, *Rotavirus* y enteroparásitos. *Yersinia enterocolitica* se aisló en 10 pacientes como único agente enteropatogénico y en 5 episodios asociada a otros agentes.

La caracterización microbiológica de las cepas aisladas se expone en la tabla 3. En los pacientes con diarrea la gran mayoría de las cepas (84,6%) correspondió al serotipo 0:3 y biotipo 4. Las restantes, 15,3%, a serotipos 0:7,8,

Tabla 3

Características microbiológicas de 32 cepas de <i>Y. enterocolitica</i> aisladas de infecciones entéricas en niños de 0-4 años		
Característica	Grupo diarrea n=26	Grupo control n=6
Serogrupo		
0:3	19	6
0:7,8	4	0
0:10	2	
0:6	1	
Biotipo		
4	19	6
1A	7	0
Plasmidio de virulencia por cristal violeta	22	6
Betalactamasa por nitrocefina	26	6
Factores de resistencia (AM-CF)*	26	6
Sensibles a CTM-CAF-ENOX-GM-CXT*	26	6

* AM = Ampicilina; CF = Cefalotina; CTM = Cotrimoxazol; CAF = Cloramfenicol; ENOX = Noxacina; GM = Gentamicina; CXT = Ceftriaxona.

0:10 y 0:6. En los niños asintomáticos todas las cepas fueron serotipos 0:3. Mediante la prueba de cristal violeta se observó que tanto las cepas aisladas de niños con diarrea como de asintomáticos albergaban el plasmidio de virulencia y conservaban su potencial patógeno; sólo en 4 cepas aisladas de niños con diarrea la prueba de cristal violeta fue negativa. Esto fue corroborado con la técnica de hibridización del DNA utilizando la sonda biotinilada.

Todas las cepas de *Y. enterocolitica* producían una betalactamasa de amplio espectro capaz de hidrolizar ampicilina y cefalotina y eran sensibles a cotrimoxazol, cloramfenicol, enoxacina, gentamicina y ceftriaxona.

La figura muestra el aislamiento de cepas de *Y. enterocolitica* a lo largo del año, observándose que 50% de los aislamientos se concentra en los meses fríos de junio, julio, agosto y septiembre.

El hecho de insertarse este estudio en un proyecto prospectivo de vigilancia de diarrea

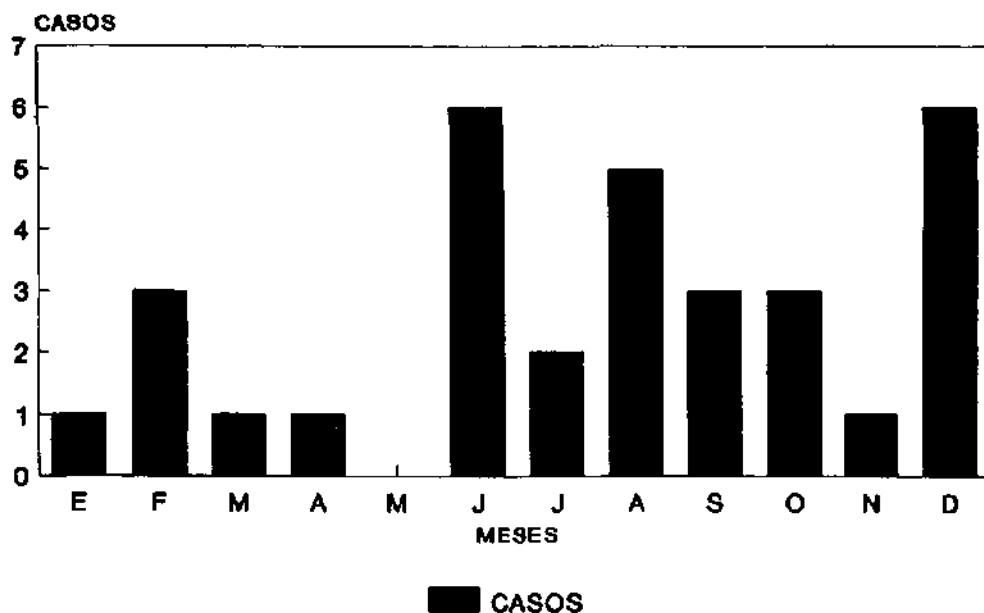


Figura: Distribución por mes de las 36 cepas de *Y. enterocolitica*, aisladas de casos de diarrea y controles. La mayor frecuencia de aislamientos se observó tanto en meses fríos (junio, agosto) como en meses calurosos (diciembre).

en dos de las cohortes permitió detectar infecciones sucesivas recurrentes o persistentes en tres pacientes. Uno fue un lactante que sufrió un primer episodio de diarrea aguda, asociado a *Y. enterocolitica*, de 29 días de duración, por el que fue tratado con cloramfenicol por 5 días. Después de permanecer asintomático por 16 días presentó el segundo episodio de diarrea, esta vez de 10 días de duración, en el curso del cual se aisló nuevamente *Y. enterocolitica*; no recibió antibióticos. Permaneció 7 días asintomático antes de sufrir el tercer episodio de diarrea, que duró 9 días, en el que también se aisló *Y. enterocolitica* y recibió cloramfenicol por 15 días. El segundo caso es el de una niña de 11 meses que tuvo un episodio de diarrea aguda de 14 días de duración, en que se aisló sólo *Y. enterocolitica*. Como presentó en forma concomitante otitis media aguda, se le dio ampicilina por 7 días, que no es activo en *Y. enterocolitica*. Un mes después, en un coproculativo de control, estando asintomática, se comprobó persistencia de *Y. enterocolitica*, pero no sufrió nuevos episodios de diarrea. En otro paciente de 23 meses se constató portación de *Y. enterocolitica* a lo largo de dos meses sin que ocurriera diarrea.

Comentario

Estos resultados han hecho posible conocer la incidencia y características clínicas de las infecciones entéricas por *Y. enterocolitica* en una población infantil de Santiago y establecer comparaciones con la epidemiología descrita en otros países. La incidencia de aislamiento de *Yersinia* en preescolares y lactantes de este estudio es similar a la incidencia que encontramos en 1980 en niños hospitalizados por diarrea aguda⁷, inferior a la de 2,8% descrita en Canadá¹, pero semejante a la de 1,4% observada en Siena, Italia, en menores de 14 años¹⁸. Es importante destacar que en los niños controles la incidencia de *Y. enterocolitica* fue significativamente menor, lo cual reafirma el rol de esta bacteria como agente enteropatógeno.

Con respecto a las características clínicas, nuestras observaciones son diferentes a las de investigadores canadienses que registraron fiebre en 64,5%, vómitos en 38,5%, dolor abdominal en 64,5% y síndrome disentérico en 26% de los pacientes afectados¹, pues en nuestros pacientes la diarrea fue predominantemente con deposiciones líquidas o mucus y, no obstante que *Y. enterocolitica* es una bacteria con capacidad

invasora, no se observó síndrome disentérico, como tampoco dolor abdominal. Es probable que en nuestro estudio el dolor abdominal pudiese haber sido subestimado por la madre o los pediatras debido a la corta edad de los niños, pero las discrepancias entre estas series y las canadienses pueden también explicarse por diferencias en la estructura etaria de los pacientes de ambos estudios, siendo posible que el cuadro clínico más característico se presente en edades mayores, como en el caso de la experiencia de los investigadores canadienses y el caso percibido por nuestro grupo, en un pariente mayor, al margen de este seguimiento.

La prueba del cristal violeta, sencilla de realizar y de bajo costo, demostró en un estudio previo 100% de sensibilidad y 65% de especificidad al compararla con otras técnicas de referencia, como la citotoxicidad en cultivo de células HEP-2 e hibridación con una sonda biotinilada derivada del fragmento 7 BamHI del plasmidio de virulencia¹⁶. La prueba del cristal violeta permitió detectar indirectamente la presencia del plasmidio de virulencia en las cepas de *Y. enterocolitica* aisladas de niños con diarrea y controles. Esto último señalaría que algunos niños pueden hacer infecciones asintomáticas por este agente, ya sea debido a inmunidad por contactos previos o porque algunas cepas tienen mayor virulencia que otras, lo que estaría determinado por factores aún no identificados.

La transmisibilidad en contactos intrafamiliares de *Y. enterocolitica* resultó ser de 6,8% en adultos y 29% en niños en un estudio canadiense¹. Aunque no era uno de nuestros objetivos ver la diseminación en el ambiente familiar, detectamos un caso de yersiniosis caracterizado por fiebre, diarrea y dolor abdominal en una niña de 13 años, hermana de una paciente incluida dentro de una de las cohortes, la cual en forma contemporánea presentó una diarrea aguda asociada a *Y. enterocolitica*.

El serotipo 0:3, biotipo 4, predominante en nuestra serie, correspondió también al que prevalece en áreas geográficas diferentes, incluidos los EUA donde, hasta hace algunos años, predominaba el serotipo 0:8 en los aislamientos, por lo que llegó a denominarseles "cepas (norte) americanas", pero en los últimos 11 años ha ocurrido un cambio epidemiológico emergiendo en primer lugar el serotipo 0:3 en California y Nueva York⁸.

Si bien este estudio muestra que en Santiago la incidencia de *Y. enterocolitica* en la diarrea aguda es baja, coincidiendo con resultados previos que consideraban pocos pacientes y una visión transversal del problema⁷, parece importante incluir su búsqueda sistemática en el estudio etiológico de los casos de diarrea aguda que lo requieran, en particular considerando que puede provocar cuadros de curso prolongado, en los que se justifica plenamente. La pesquisa debe hacerse con los métodos adecuados, que incluyen los medios selectivos, temperaturas apropiadas de incubación y personal de laboratorio experimentado, especialmente en niños menores de dos años. Nuestras observaciones muestran que *Y. enterocolitica*, posiblemente por la capacidad que tiene de resistir la fagocitosis y la destrucción dentro de los macrófagos, puede producir infecciones prolongadas difíciles de erradicar por los mecanismos de defensa del huésped y por los antibióticos.

Tomando en cuenta que la yersiniosis es una zoonosis, la incidencia de *Y. enterocolitica* en infecciones humanas puede estar relacionada con la magnitud y características del reservorio animal y de otros como alimentos¹⁸, por lo que podrían ser de gran utilidad estudios que aportasen información en tal sentido en nuestro medio, pues permitiría formular recomendaciones preventivas eficaces.

Resumen

Yersinia enterocolitica es causa frecuente de infecciones intestinales endémicas en países de Europa y Norteamérica, pero la información sobre ella en Iberoamérica es escasa. El propósito de este estudio fue describir la incidencia y características clínicas de infecciones intestinales por *Y. enterocolitica* en 3 cohortes de niños menores de 4 años de familias de bajos recursos de Santiago. Los niños fueron vigilados activamente con visitas domiciliarias dos veces por semana, se les tomaron muestras de deposición en cada episodio de diarrea, como también a controles pareados por edad y sexo. Entre febrero 1987 y enero 1990 se estudiaron 1 795 episodios de diarrea. La incidencia de *Y. enterocolitica* en los casos de diarrea fue de 1,4% versus 0,3% en 1 780 controles ($p < 0,005$). La diarrea asociada a *Y. enterocolitica* se caracterizó por deposiciones líquidas o mucosas; en ningún caso

hubo síndrome disintérico, pero 11,5% evolucionaron como diarrea persistente (> 14 días); en 26,9% de los pacientes se observó fiebre ($\geq 38^{\circ}\text{C}$) y ninguno requirió hospitalización. De las cepas de *Yersinia* aisladas, 73% correspondieron a serotipo 0:3, biotipo 4, y las restantes a los serotipos 0:7,8, 0:10 y 0:6. No se apreciaron claras diferencias estacionales, pero 50% de los aislamientos se concentraron en los meses fríos de junio, julio, agosto, septiembre. Si bien la incidencia de *Y. enterocolitica* en diarrea aguda infantil es baja, es importante buscarla en forma sistemática y con medios selectivos en niños menores de 2 años, considerando que puede provocar enfermedad de curso prolongado.

(Palabras claves: *Yersinia enterocolitica*, diarrea aguda, lactantes, preescolares.)

Referencias

1. Marks MI, Pai Ch, Lafleur L et al.: *Yersinia enterocolitica* gastroenteritis: A prospective study of clinical, bacteriologic, and epidemiologic features. *J Pediatr* 1980; 96: 26-31.
2. Robins-Browne R: Yersiniosis to day (Edit.) *Lancet* i, 1984; 84-85.
3. Black RE, Jackson RJ, Tsai T et al.: Epidemic *Yersinia enterocolitica* infection due to contaminated chocolate milk. *N Engl J Med* 1978; 298: 76-79.
4. Aulizio CCG, Stanfield JT, Weagant SD, Hill HE: Yersiniosis associated with tofu consumption: serological biochemical and pathogenicity studies of *Yersinia enterocolitica* isolates. *J Food Prot* 1983; 46: 226-230.
5. Carniel E, Butler T, Hossain S et al.: Infrequent detection of *Yersinia enterocolitica* in childhood diarrhea in Bangladesh. *Sm J Trop Med Hyg* 1985; 35: 370-371.
6. Franzin L, Di Rosa G, Simicco A: Attempt of *Yersinia enterocolitica* isolation from human feces in Senegal. *Eu J Epidemiol* 1987; 3: 445-447.
7. Prado V, Cohen J: *Yersinia enterocolitica*: su rol como agente de diarrea aguda en lactantes chilenos. *Rev Chil Pediatr* 1980; 51: 69-72.
8. Shayegani M, De Forge I, McGlynn DM: Characteristics of *Yersinia enterocolitica* and related species isolated from human, animal and environmental sources. *J Clin Microbiol*, 1981; 14: 304-312.
9. Wauters G, Kandolo K, and Janssem M: Revised biogrouping scheme of *Yersinia enterocolitica*. *Contr Microbiol Immunol* 1987; 9: 14-20.
10. Gemski P, Lazere JR, Casey T: Plasmid associated with pathogenicity and calcium dependency of *Yersinia enterocolitica*. *Infect Immun* 1980; 27: 682-685.
11. Portnoy DA, Wolf-Watz H, Bolin I: Characterization of common virulence plasmids in *Yersinia* species and their role in the expression of outer membrane proteins. *Infect Immun* 1984; 43: 108-114.
12. Propic JK, Robins-Browne R: Differentiation between virulent and avirulent *Yersinia enterocolitica* by using Congo Red-agar. *J Clin Microbiol* 1983; 18: 486-490.
13. Bhaduri S, Conway L, Lachica V: Assay of crystal violet binding for rapid identification of virulence plasmid-bearing colonies of *Yersinia enterocolitica*. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 1039-1042.
14. Miller VL, Farmer III JJ, Hill WE, Falkow S: The *ail* locus is found uniquely in *Yersinia enterocolitica* serotypes commonly associated with disease. *Infect Immun* 1989; 57: 121-131.
15. Robins-Browne RM, Millioris MD, Cianciosi S et al.: Detection of virulence in *Yersinia* species by DNA colony hybridization. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 644-650.
16. Mollinedo E: Evaluación de diferentes técnicas de laboratorio microbiológico y de biología molecular para identificar cepas de *Yersinia enterocolitica* asociadas a infecciones entéricas en niños. Tesis para optar al grado de Magister en Microbiología. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. 1990.
17. Anhalt JP, Sabatt LD, Barry AL: Special tests: bactericidal activity, activity of antimicrobics in combination, and detection of beta-lactamase production; in Lennette, EJ, Balows A, Hausler WJ et al. (eds.). *Manual of Clinical Microbiology* 3er ed., Washington DC, ASM, 1980; 478-484.
18. Mungrone MG, Fantasia M, Figura N and Guglielmetti P: Characteristics of *Yersinia enterocolitica* isolated from children with diarrhea in Italy. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 1301-1304.
19. Bisseth ML, Powers C, Abbott SL, Janda JM: Epidemiologic investigations of *Yersinia enterocolitica* and related species: sources, frequency and serogroup distribution. *J Clin Microbiol* 1990; 29: 910-912.