



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

“Especies del género *Aeromonas* como patógenos oportunistas en mamíferos, peces y humanos”

Tesis de revisión

Tesis que para obtener el título de:

LICENCIADO EN BIÓLOGIA

PRESENTA:

Dulce Andrea Montes Perez

DIRECTORA DE TESIS:

Dra. Dalia Molina Romero

CO-DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Antonino Baez Rogelio



Noviembre 2022

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer en primer lugar a Dios por permitirme culminar esta etapa tan importante de mi vida, en la que terminé mi camino universitario en la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, por poder estudiar esta carrera y realizar este trabajo como resultado de mi esfuerzo y dedicación a lo largo de estos años de mi vida.

Agradezco a mi familia por todo el amor y apoyo que me brindaron, sobre todo a mis padres por creer en mí, apoyarme en mi sueño de ser Bióloga y siempre estar ahí cuando los necesito, por escucharme y darme sus consejos, los cuales siempre fueron de alguna manera un gran consuelo y ayuda, a pesar de algunas veces no entendía sobre de les hablaba y a mi hermana por siempre poder contar con ella cuando la necesito.

Quiero darle mi más sincero agradecimiento a mi asesora de tesis la doctora Dalia Molina Romero por brindarme la oportunidad de trabajar con usted, por su valioso tiempo, dedicación y paciencia al brindarme conocimiento y corregir la presente tesis, es un gran placer el haberla conocido y el que fuera mi profesora, de todo corazón gracias.

A mi co-asesor el doctor Antonino Baez Rogelio por su orientación, asesoría y sugerencias con el fin de corregir y mejorar el documento, lamento no haber tenido la oportunidad de conocerlo en persona, aun así, gracias.

A las doctoras Lorena Milflores Flores y Berenice Venegas Meneses por darme parte de su tiempo y revisar mi trabajo, gracias por su apoyo.

A mi tutora de la facultad la doctora Rosalina Reyes Luna por todo el apoyo que me brindó a lo largo de la carrera, por escuchar mis problemas o dudas, darme consejos y siempre estar ahí para mí y el resto de mis compañeros.

A mis compañeros y amigos de la facultad, Fernanda, Lucía, Kassandra, Nora, Dominga y Mariana, con quienes tuve momentos divertidos y emocionantes durante la carrera, gracias por el apoyo y cariño que me brindaron en estos 5 años, deseo de todo corazón que tengan éxito en su vida y logren todo lo que se proponga.

ÍNDICE

RESUMEN	5
1. INTRODUCCIÓN	6
2. ANTECEDENTES.....	8
2.1 Ecología de <i>Aeromonas</i>	8
2.2 Patógeno oportunista	9
3. JUSTIFICACIÓN.....	11
4. OBJETIVOS.....	12
4.1 OBJETIVO GENERAL.....	12
4.2 OBJETIVO PARTICULAR	12
5. MATERIAL Y MÉTODOS	13
6. RESULTADOS.....	13
6.1 Factores de virulencia	13
6.2 Biopelícula.....	16
6.3 Elementos genéticos de <i>Aeromonas</i> que le confieren resistencia a antibióticos.....	20
6.3.1 Plásmidos	21
6.3.2 Integrones.....	23
6.3.3 Transposones	24
6.3.4 Bacteriófagos.....	25
6.4 Mecanismos de resistencia antibióticos	26
6.4.1 Enzimas inactivadoras de antibióticos	26
6.4.2 Bombas de flujo	27
6.5 Perfiles de resistencia a antibióticos de <i>Aeromonas</i>	28

7. DISCUSIÓN.....	31
8. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	34
9. REFERENCIAS	35

RESUMEN

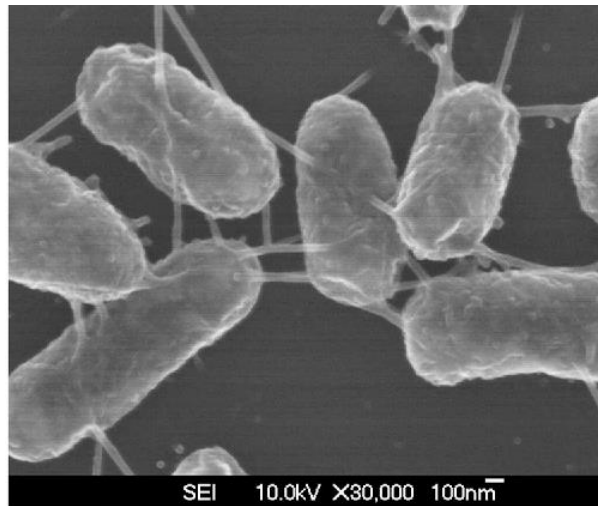
Aeromonas es un género de bacterias Gram negativas que posee diversos factores de virulencia, esta bacteria se ha reportado como patógeno emergente en algunos grupos de la población humana; debido a su capacidad de generar enfermedades infecciosas que afectan el sistema gastrointestinal, el circulatorio y algunos tejidos blandos de individuos inmuno-comprometidos, adultos mayores e infantes. También, *Aeromonas* es un patógeno oportunista de mamíferos y peces.

Las bacterias de este género proliferan en diversos ambientes como el suelo, agua y en diferentes hospederos, mostrando una gran capacidad de adaptación. Este trabajo es una tesis revisión, donde se emplearon las bases de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) y del Instituto Multidisciplinario de Publicaciones Digitales (MDPI), cuyos criterios de selección fueron: primero, que la investigación documentara la presencia de los factores de virulencia en las diferentes especies de *Aeromonas*, segundo, que describieran los elementos genéticos que participan en los mecanismos de transferencia horizontal de genes, y tercero, que evidenciaran la resistencia a antibióticos en *Aeromonas*, asociado a la presencia de genes que le confieran esta resistencia y que la investigación abordara la formación de biopelícula. Por lo que el objetivo principal de esta revisión fue describir los factores de virulencia del género *Aeromonas*, la capacidad de formar biopelícula y la resistencia a antibióticos, así como regulación del *Quorum Sensing* (QS) sobre los genes que codifican los factores de virulencia. Además, se discutió la capacidad de multirresistencia y su capacidad como patógeno oportunista que posicionan a la infección por *Aeromonas* como un problema de salud pública.

1. INTRODUCCIÓN

El género *Aeromonas* pertenece a la clase Gamma-proteobacteria y forma parte de la familia Aeromonadaceae, son bacterias Gram negativas, citocromo oxidasa y catalasa positiva, capaces de fermentar glucosa; además, son bacterias anaerobias facultativas y quimiorganotrofas (Tomás, 2012; Lee et al, 2021), se han clasificado en dos grupos basado en su temperatura de crecimiento: las especies mesófilas y móviles donde se ubican *Aeromonas hydrophila* y *Aeromonas caviae*, estas especies son capaces de producir diversos factores de virulencia, y el segundo grupo está integrado por especies psicrófilas y no móviles, donde la especie representativa es *Aeromonas salmonicida* (Lee et al., 2021).

Figura 1. Micrográficas electrónicas de barrido de *A. hydrophila*



Castro et al., 2014

Dada su versatilidad metabólica, *Aeromonas* puede colonizar prácticamente cualquier ambiente, causando en algunos casos infecciones en peces, mamíferos y humanos. Los estudios se han enfocado en describir los factores de virulencia, enzimáticos, estructurales y extracelulares, así como diferentes patrones de resistencia a antibióticos. Algunas especies de *Aeromonas* son patógenos de peces, las infecciones causadas por esta bacteria son un problema en la piscicultura, para solventar esta dificultad se han aplicado antibióticos para el tratamiento de estas infecciones, el uso generalizado de estos fármacos y dosis subterapéuticas han inducido un aumento de la resistencia a

antibióticos, dando como resultado una reducción en la eficacia del uso de antimicrobianos para eliminar *Aeromonas* (Zdanowicz et al., 2020).

Es importante establecer la correlación de la multirresistencia a antibióticos y la plasticidad genética de *Aeromonas*, que incluye la movilidad de elementos genéticos móviles entre las especies del género y sus mecanismos de transferencia horizontal de genes, lo que explica la presencia de varios genes de resistencia y los genes que codifican factores de virulencia (Zhong et al., 2019; Bello et al., 2019).

Aeromonas spp. es capaz de formar biopelículas al adherirse a superficies bióticas o abióticas, esta es una estructura constituida de células encerradas en una matriz de sustancia polimérica extracelular, esto ofrece varias ventajas sobre el crecimiento planctónico, en particular una mayor resistencia a los antibióticos (Días et al., 2018). La regulación de la expresión de los genes que codifican rutas metabólicas, virulencia y biopelículas, son regulados de manera dependiente a la población, a través de moléculas señales difusibles, a este mecanismo se le conoce como *Quorum Sensing*: QS (Jahid et al., 2013).

La identificación genotípica y taxonómica del género *Aeromonas* está integrado por 36 especies, las cuales son; *Aeromonas allosaccharophila*, *Aeromonas aquatica*, *Aeromonas aquatilis*, *Aeromonas australiensis*, *Aeromonas bestiarum*, *Aeromonas bivalvium*, *Aeromonas cavernicola*, *Aeromonas caviae*, *Aeromonas crassostreae*, *Aeromonas dhakensis*, *Aeromonas diversa*, *Aeromonas encheleia*, *Aeromonas enterica*, *Aeromonas eucrenophila*, *Aeromonas finlandiensis*, *Aeromonas fluvialis*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas intestinalis*, *Aeromonas jandaei*, *Aeromonas media*, *Aeromonas molluscorum*, *Aeromonas lacus*, *Aeromonas lusitana*, *Aeromonas piscicola*, *Aeromonas popoffii*, *Aeromonas rivipollensis*, *Aeromonas rivuli*, *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas sanarellii*, *Aeromonas schubertii*, *Aeromonas simiae*, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas taiwanensis*, *Aeromonas tecta*, *Aeromonas trota*, *Aeromonas veronii* (Fernández & Figueras, 2020).

En esta tesis de revisión se realizó una investigación y compilación bibliográfica de algunas especies de *Aeromonas*, respecto a los diferentes factores de virulencia, la regulación del QS sobre los genes que codifican factores de virulencia y biopelícula. Los mecanismos de resistencia a antibióticos de *Aeromonas* como: las bombas de flujo y las

enzimas inactivadoras de antibióticos; así mismo los elementos genéticos móviles implicados en la creciente resistencia antibióticos; con este trabajo se pretende contribuir con el conocimiento de los diferentes patrones de resistencia y multirresistencia que muestran las diferentes especies de este género, porque esta característica representa un problema de salud pública.

2. ANTECEDENTES

2.1 Ecología de *Aeromonas*

Este género bacteriano se distribuye ampliamente en varios ecosistemas como: mares, ríos, lagos, pantanos, sedimentos, agua clorada, y sistemas de distribución de agua, tanto residuales como potable (Fernández & Figueras, 2020). Algunas especies de *Aeromonas* (Didugu et al., 2015; Lee et al., 2021) causan infecciones en vertebrados, los hospederos más afectados incluyen peces y animales de sangre fría, ganado y humanos. Se presume que la transmisión de *Aeromonas* a humanos se da a través del agua, ya que esta bacteria forma parte de la microbiota de diversos ambientes acuáticos (Didugu et al., 2015; Gonçalves et al., 2019). La prevalencia de *Aeromonas* en el agua potable y la comida: pescado, carne, leche y verduras (Stratev & Odeyemi, 2016), ha provocado una preocupación a nivel de salud pública, por lo que se ha enfatizado en crear medidas para mejorar la calidad del agua para consumo humano (Romero et al., 2016; Didugu et al., 2015). También, *Aeromonas* puede interactuar con invertebrados, en huevos y larvas de quironómidos (Laviad & Halpern, 2016), en crustáceos como cangrejos, en los cuales se han realizados estudios de la respuesta inmune ante infecciones producidas por *A. hydrophila* (Wang et al., 2019).

La presencia del género *Aeromonas* en diversos ambientes se debe a su capacidad de adaptarse a ambientes con pocos nutrientes por lo que es considerada una bacteria heterotrófica (Kerstens et al., 1996).

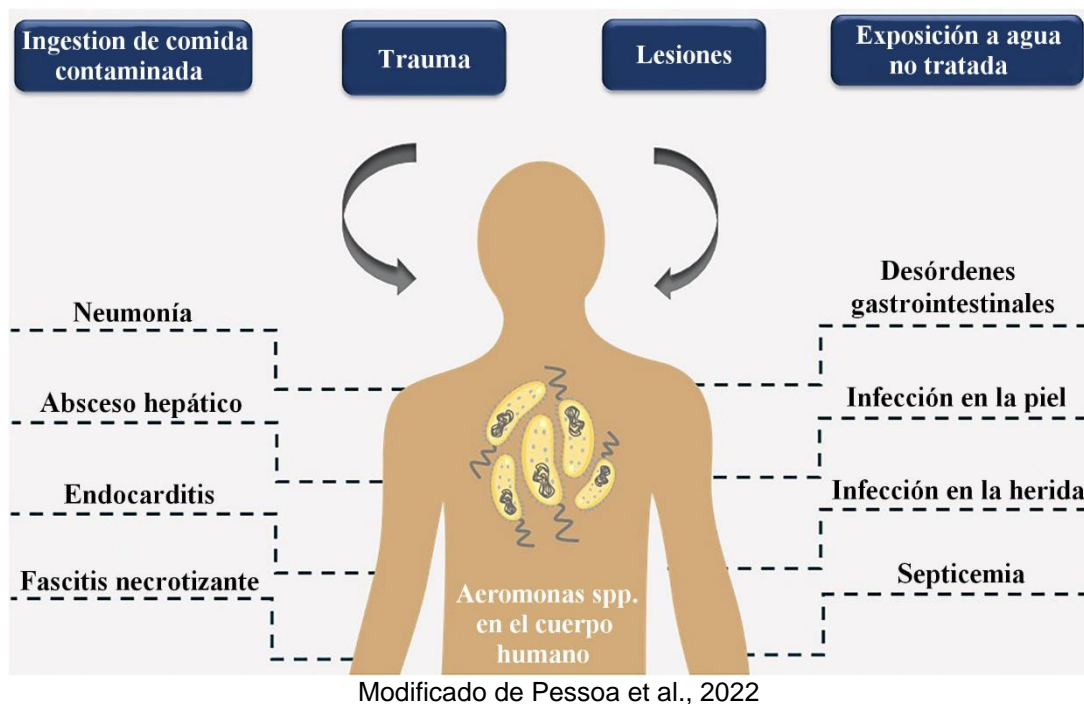
Este género al tener un alta termotolerancia puede sobrevivir en un amplio intervalo de temperaturas que va desde 5°C a 45°C (Osman et al., 2011), a un pH ácido (5) y que con un alto porcentaje de humedad de hasta 80% (John & Hatha, 2019; Park, Choi & Ha, 2019).

2.2 Patógeno oportunista

Aeromonas es un patógeno muy versátil capaz de infectar diversas células blanco en humanos, las infecciones se han agrupado en cuatro categorías, en base al tejido que dañan. Categoría 1, las infecciones en heridas o celulitis; categoría 2, infección generalizada (septicemia) en individuos inmunodeprimidos, incluidos niños (Batra et al., 2016); categoría 3, las gastroenteritis, obstrucción e inflamación del intestino delgado (Bhowmick & Bhattacharjee, 2018); categoría 4 infecciones extraintestinales como abscesos, úlceras, peritonitis, colangitis y con menos incidencia la neumonía (Gonçalves et al., 2019).

Las infecciones en humanos causadas por *Aeromonas* se han reportado en ancianos, niños y personas inmunocomprometidas y la vía de infección más probable es la vía oral, por consumo de agua potable y alimentos contaminados (Fernández & Figueras, 2020).

Figura 2. Vías de contaminación y trastornos de salud humana causados por *Aeromonas* spp.



Las especies *A. hydrophila*, *A. veronii*, y *A. salmonicida* han sido catalogadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como microorganismos de riesgo II, que incluye

microorganismos que pueden ocasionar enfermedades en humanos y animales, sin representar un riesgo para el personal del laboratorio o el ambiente (OMS, 2005).

En los peces se ha reportado una alta tasa de infección por *Aeromonas* como: *Piaractus mesopotamicus* (Marinho et al., 2019), *Megalobrama amblycephala* (Sun et al., 2021) y *Plecoglossus altivelis* (Chen et al., 2009). *Aeromonas* se comporta como un patógeno primario u oportunista, porque forma parte del tracto intestinal de los peces, y algunos animales sanos, pero factores como el estrés, el deterioro de la calidad del agua o los cambios de temperatura pueden desencadenar infecciones en estos hospederos (Syrova et al., 2018; Tewari et al., 2014); como ejemplo, *A. hydrophila* es capaz de generar infección aguda en adultos y embriones de pez cebra en condiciones experimentales controladas, a pesar de que forma parte de su microbiota (Romero et al., 2016; Saraceni et al., 2016).

También, se han identificado otras especies móviles en peces infectados, como *A. veronii* que se ha identificado como un importante agente causante del síndrome ulcerativo epizootico en peces (Ran et al., 2018). *A. hydrophila* causa en peces la sepsis, la necrosis, alteraciones vasculares y lesiones microscópicas en órganos como hígado, bazo y riñón (Marinho et al., 2019). *A. salmonicida* causa furunculosis en peces, esta es una enfermedad compleja cuya aparición y desarrollo depende del ambiente y del organismo que la padece, se ha descrito como un problema en criaderos de peces a pesar de que hay una vacuna que previene esta enfermedad (Dallaire et al., 2014).

Las enfermedades provocadas en peces por *Aeromonas* son un problema grave para la salud pública, debido a su consumo, además de provocar importantes pérdidas económicas, consecuencia del alto número de peces muertos, particularmente en China, India y Taiwán (Hu et al., 2012; Dubey et al., 2021).

En mamíferos, los roedores son los animales más infectados por agentes patógenos en la naturaleza, debido a su amplia distribución y por su hábito de consumir alimentos contaminados, son reservorios de enfermedades para humanos y otros animales, estos mamíferos albergan en su microbiota bacterias potencialmente patógenas como *Aeromonas* spp. (Ayyal et al., 2019). Además, los animales de la industria ganadera son afectados por *Aeromonas*, en particular los criados de manera local y expansiva, un ejemplo es un estudio en cerdos realizado en Sudáfrica, donde aislaron *A. veronii* de

muestras rectales de cerdos, los autores describieron que los aislados compartían un resistoma similar, presentaron el perfil de resistencia a ampicilina, amoxicilina, imipenem y piperacilina-tazobactam, estos resultados generaron preocupación, debido al consumo de carne de cerdo (Ramsamy et al., 2020).

La investigación veterinaria ha reportado un caso de leptospirosis fatal en un perro cuyo agente etiológico fue *A. hydrophila*; también se reportó un caso de septicemia en cachorros y celulitis en un Border Collie (Worthing et al., 2019).

3. JUSTIFICACIÓN

Algunas especies del género *Aeromonas* son patógenos oportunistas distribuidos en diversos ambientes acuáticos, con capacidad de infectar peces y mamíferos, incluidos humanos. Esta bacteria provoca infecciones gastrointestinales y extraintestinales en sus hospederos inmunodeprimidos, considerándose así un riesgo para la salud pública, además de generar grandes pérdidas económicas en la acuicultura.

Los factores de virulencia que exhibe *Aeromonas* han sido estudiados sobre todo a nivel bioquímico, así mismo es importante definir la regulación de los genes que codifican los factores de virulencia, para sugerir nuevos blancos y detener la infección de *Aeromonas*, tal como las biopelículas que le brindan a la bacteria la adhesión, habitar diversos ambientes acuáticos, interactuar con otros géneros bacterianos, crear un ambiente ideal para la transferencia de genes y resistir el tratamiento de múltiples fármacos, químicos, metales pesados y antibióticos; el mal manejo y el uso indiscriminado de estos últimos, causan la resistencia y multiresistencia a antibióticos de las bacterias patógenas, que afectan la salud de las personas.

Por lo anterior, es importante documentar en *Aeromonas* los mecanismos y los genes que le confieren resistencia a antibióticos, así como la regulación de los genes que codifican los factores de virulencia mediante el *Quorum sensing*, para encontrar posibles estrategias para la eliminación de *Aeromonas* por métodos diferentes al empleo de antibióticos.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Describir los factores de virulencia del género *Aeromonas*, la capacidad de formar biopelícula y la resistencia a antibióticos, así como regulación del *Quorum Sensing* sobre los genes que codifican los factores de virulencia.

4.2 OBJETIVO PARTICULAR

- Investigar los diferentes factores de virulencia que le provee la patogenicidad a *Aeromonas*.
- Describir los mecanismos y genes implicados en la formación de biopelículas en *Aeromonas*.
- Describir la regulación del *Quorum Sensing* sobre los genes que codifican factores de virulencia en *Aeromonas*
- Documentar los mecanismos de resistencia a antibióticos descritos en *Aeromonas*.
- Evidenciar la creciente resistencia a antibióticos en el género *Aeromonas* y su riesgo para la salud pública

5. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó una revisión exhaustiva de artículos que se encontraban en las bases de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) y del Instituto Multidisciplinario de Publicaciones Digitales (MDPI), en estas investigaciones se buscó la descripción de los factores de virulencia que provocan la patogenicidad de *Aeromonas*, la capacidad de formar biopelículas, la resistencia a antibióticos en *Aeromonas* y los genes involucrados en esta. Al seleccionar los artículos utilizados se priorizó que su fecha de publicación no fuera posterior a 2012 y que sean originales, sin embargo, en casos donde la información que proporcionaban era relevante para la revisión se ignoraban estos requisitos.

Se seleccionaron 112 artículos, los cuales fueron analizados, resumidos y se extrajeron los datos específicos sobre *Aeromonas*. Con estos estudios se estructuró una base de datos, que contenían la información respecto a las diferentes fuentes de aislamiento de las especies, como los humanos, los peces o el ambiente; se analizaron las diferencias y similitudes respecto a factores de virulencia, producción de biopelícula, regulación del *Quorum Sensing* y resistencia a antibióticos de las cepas del género, el escrito está estructurado con toda esta información recabada, además que se organizó la información más relevante en tablas y figuras.

6. RESULTADOS

6.1 Factores de virulencia

Algunas especies de *Aeromonas* poseen diversos factores de virulencia estructurales. La capa S de *A. salmonicida* tiene actividad anti-fagocítica, aumentan la adherencia a su célula blanco, evade las defensas y congestiona los vasos sanguíneos hepáticos (Rasmussen et al., 2016); los Pili de tipo IV están implicados en la adherencia a células epiteliales, colonización, invasión celular y en la formación de biopelículas (Beaz & Figueras, 2013); los Pili formadores de haces son considerados los principales factores de colonización en *Aeromonas* spp., porque pueden formar redes o haces filamentosos, biopelículas y la auto aglutinación, provoca sepsis (Lowry et al, 2014; Hadi et al, 2012); El sistema flagelar está involucrado en la adhesión a la célula epitelial, colonización en el

tejido intestinal y promueve la glicosilación de su célula huésped (Merino & Tomás, 2006) estos factores de virulencia están representados en la figura 3, generada en este trabajo. Otros factores de virulencia son las enzimas (Figura 3), como las aerolisinas cuya liberación causa daño tisular como lisis osmótica, inflamación de granulocitos y la muerte celular en sangre, esta enzima se une a glicorreceptores específicos en la superficie de las células del huésped antes de insertarse en la bicapa lipídica forma poros, destruye la membrana y genera hemólisis (Batra et al., 2016; Dong et al., 2020;). Las enterotoxinas, se dividen en enterotoxinas citotónicas termolábiles y enterotoxinas citotónicas termoestables, inducen un aumento del adenosín monofosfato cíclico (AMPc) y de prostaglandinas en las células del íleon en consecuencia provoca la secreción de líquidos en el intestino como diarrea secretora (Gonçalves et al., 2019). Las elastasas, destruyen la membrana basal porque degradan el colágeno tipo III y IV, además permiten la entrada de la bacteria a través del tejido dérmico (Barger, Liles, & Newton, 2020). Las enolasas secretadas en las superficies celulares presentan la función de degradar proteínas del plasma sanguíneo, es una proteína de choque térmico, además es un regulador de la transcripción (Sha et al., 2009). Los lipopolisacáridos (LPS) son complejos anfífilos capaces de degradar activamente moléculas complejas, además de inactivar la respuesta inmune del huésped (Fernández & Figueras, 2020; Mendoza & Tomás, 2021).

La patogénesis de *Aeromonas* incluye varias exotoxinas, que provocan diarrea al modificar el residuo de diftamida en células eucariotas, inhiben la formación de proteínas y degenera criptas y vellosidades del intestino delgado (Jutfelt et al., 2008; Tomás, 2012;). Otras enzimas importantes son las nucleasas, que aumentan la invasividad bacteriana al romper el ADN de las trampas extracelulares liberadas por fagocitos, promoviendo la supervivencia bacteriana ante la respuesta inmunes (Ji et al., 2015; Yang et al., 2019), y las proteasas facilitan las interacciones con otros microorganismos, y favorece la activación proteolítica de toxinas (Tomás, 2012). Las lipasas hidrolizan a los triglicéridos, interactúan con leucocitos y lisan a los eritrocitos, participan en la formación de biopelícula (Igbinosa et al., 2015; Gonçalves et al., 2019).

Otras enzimas multifuncionales son las hemolisinas, inducen diarrea en humanos y tiene actividad formadora de poros provocando lisis de eritrocitos (Takahashi et al., 2006). La toxina Shiga inactiva a los ribosomas de las células endoteliales vasculares e inhibe la

síntesis de proteínas lo que provoca muerte celular, colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (Fernández & Figueras, 2020; Schuetz, 2019); las DNAsas contribuyen al daño tisular y facilitan la invasión y multiplicación bacteriana (Marinho et al., 2019).

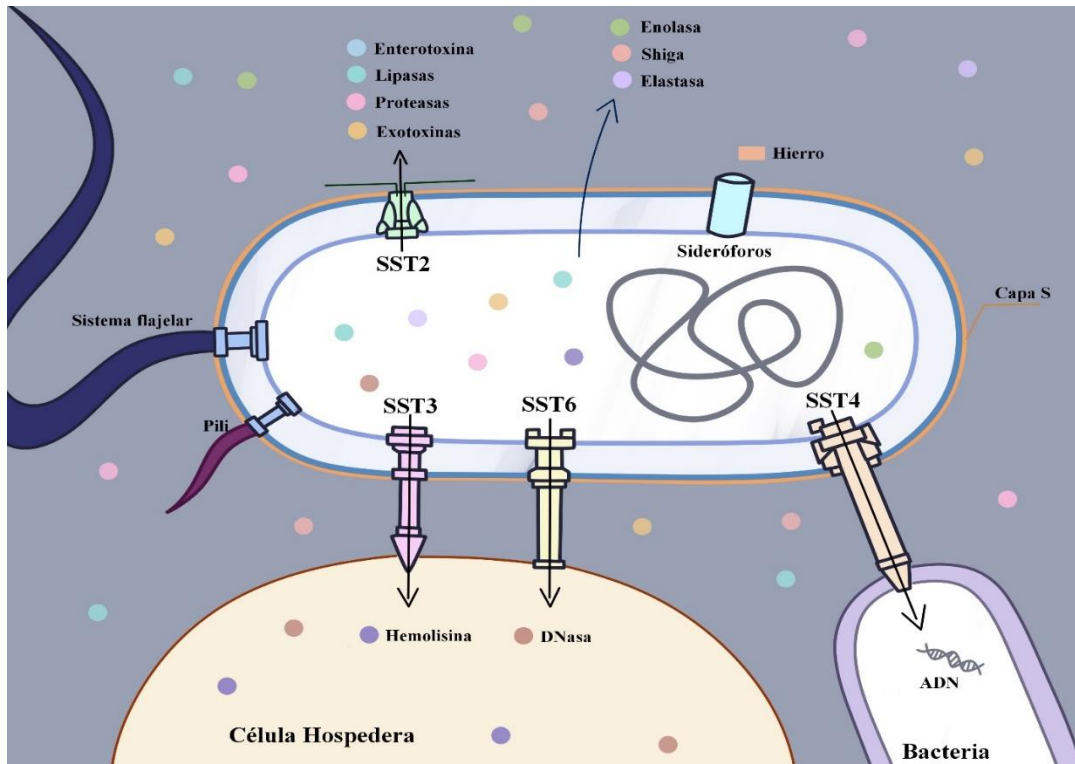
Los factores de virulencia extracelular (Figura 3) en *Aeromonas* incluye a los sideróforos que son sistemas de unión a hierro, estos presentan una alta afinidad a los iones ferrosos de sus huéspedes o de los polímeros insolubles del medio ambiente (Maltz, & Graf, 2015; Tomás, 2012).

Otros factores extracelulares son los sistemas de secreción (SST), como el tipo II, que es un complejo compuesto de 12 a 16 proteínas que se extiende por el espacio periplásmico, que trasladan proteínas plegadas, desde el periplasma al medio extracelular del hospedero, además de secretar proteínas involucradas en la formación de biopelículas (Barger, et al., 2020; Strozen, 2011). El sistema de secreción tipo III es encontrado con mayor frecuencia en aislados clínicos en comparación a los ambientales, funciona como una aguja molecular compuesta por 20 proteínas, inyecta toxinas efectoras en las células huésped, daña la fisiología celular y la fagocitosis, afectando así al sistema inmune innato y adaptativo de peces y humanos (Origgi et al., 2017). El sistema de secreción tipo IV es capaz de transportar ADN y proteínas, que tienen un papel importante en la conjugación bacteriana (Fernández & Figueras, 2020)

Los sistemas de secreción tipo VI permite la inyección de factores de virulencia en las células huésped a través de las proteínas G y las proteínas Hcp (proteína corregulada con hemolisina) (Rasmussen et al., 2016).

En cepas ambientales se correlacionó que la expresión de los genes que codifican los factores de virulencia está asociada a cambios ambientales como temperatura y el pH (Rasmussen et al., 2016; John & Hatha, 2019). Como ejemplo, se observó un incremento en la expresión de genes de virulencia de aerolisina (*aerA*), elastasa (*ela*), lipasa (*gcat*), flagelina (*spsD*) y T3SS (*asc*, *asx*) en aislados de *A. hydrophila*, a temperaturas de 28 °C y 37 °C en comparación a los aislados de 20 °C (Pattanayak et al., 2020). Por otra parte, se demostró que las cepas de *Aeromonas* patógenas de anfibios, peces y reptiles son capaces de producir exotoxinas (hemolisina y enterotoxina) a bajas temperaturas (Daskalov, 2006).

Figura 3. Factores de virulencia en *Aeromonas* y los sistemas de secreción por los que son expulsados



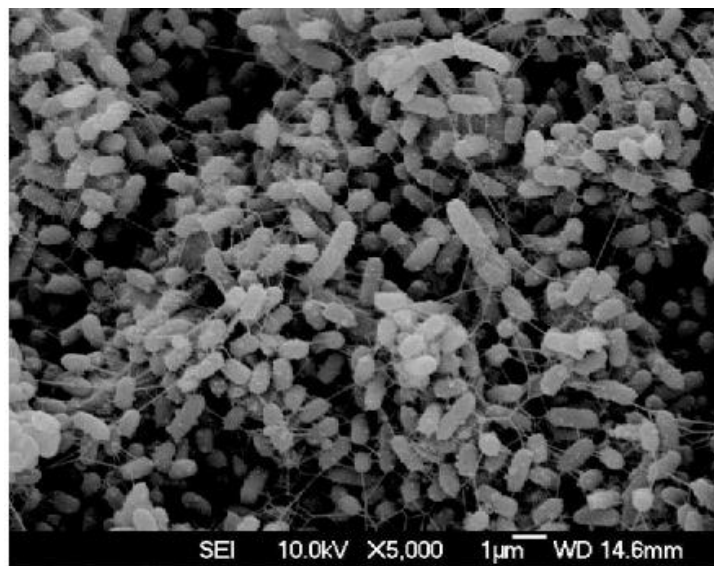
Factores de virulencia extracelulares, SST: sistema de secreción tipo 2, 3, 4 y 6, sideróforos. Factores de virulencia enzimáticos, Hemolisinas, DNasa, Enterotoxinas, lipasas, proteasas, exotoxinas, enolasa, shiga y elastasa. Factores de virulencia estructurales, pili, sistema flagelar y Capa S. ADN: Ácido desoxirribonucleico

6.2 Biopelícula

Las biopelículas (en inglés biofilms) bacterianas son grupos estructurados de células englobadas en una matriz de exopolisacárido autoproducida por las bacterias que constituyen la biopelícula, para adherirse a una superficie, esta estructura ofrece ventajas como la protección contra antibióticos, desecación, y radiación UV; en comparación con el crecimiento planctónico o unicelular. La formación de biopelícula es un mecanismo que le permite a *A. hydrophila* resistir a betalactámicos, tetraciclinas y macrólidos (Shuang et al., 2020). *Aeromonas* emplea a los flagelos, los LPS y otros polisacáridos de superficie para la formación de la biopelícula; también utiliza la quimiotaxis, transportadores de Mg^{2+} y modificaciones en su citoesqueleto (Mendoza & Tomás, 2021).

Estudios indican que *Aeromonas* spp. forma biopelícula en acero inoxidable, cobre, polibutileno y caucho; incluida la tubería de distribución de agua potable (Dong et al., 2020), esto genera una gran preocupación para la salud pública, debido a que las biopelículas pueden contener a una comunidad con diferentes especies patógenas, propiciando un sistema de circulación de nutrientes y agua que asegura su supervivencia, además de la presencia de DNA libre para realizar la transferencia horizontal de material genético en la biopelícula de *Aeromonas* (Del Castillo et al., 2013).

Figura 4. Microscopía Electrónica de Barrido de biopelículas de *A. hydrophila*



Castro et al., 2014

La formación de biopelícula está regulada por un mecanismo denominado “*Quorum sensing*” (QS), el cual confiere a las bacterias la capacidad de liberar, detectar, responder y monitorear su densidad celular, mediante la liberación de las moléculas señal o auto inductores (Sidhu et al., 2020), en las bacterias Gram-negativas las moléculas señal son principalmente lactonas de homoserina aciladas (AHL), que ejercen un efecto en la regulación de la expresión génica que codifica diversos procesos fisiológicos, cuando la bacteria sensa altas poblaciones, en el medio ambiente (Thomas et al., 2020).

En *A. hydrophyla* se han descrito tres sistemas de QS con su correspondiente auto inductor, los sistemas tipo 1 censan el auto inductor AHL, el sistema tipo 2 LuxS y el sistema tipo 3 QseBC (Jin et al., 2020).

El sistema auto inductor tipo 1 (AI-1) se encuentra ampliamente distribuido entre las bacterias Gram negativas, la estructura química del auto inductor está basada en la N-acil homoserina lactonas (AHL), que se derivan de componentes del metabolismo bacteriano, como la S-adenosil metionina y proteínas portadoras de acil-acilo derivadas de la biosíntesis de ácidos grasos (Talagrand et al., 2017). Los principales auto inductores de *Aeromonas* son N- butanoil homoserina lactona (C4-AHL) y N -hexanoil homoserina lactona (C6-AHL).

En base al análisis del genoma de *A. hydrophila*, se identificaron a los genes centrales del AI-1, el gen *ahyl* codifica a la proteína Ahyl, enzima responsable de la biosíntesis de la molécula señal; y el gen *ahyR* codifica a la proteína AhyR (Kirke et al., 2004).

La expresión de *ahyl* depende de la fase de crecimiento de *Aeromonas*, durante la fase exponencial, se incrementa la producción de AhyR, que regula de forma positiva la expresión de *ahyl*, en consecuencia, se incrementa la producción de AHL; mientras que en la fase estacionaria AhyR se comporta como un regulador negativo de la expresión de *ahyl* (Talagrand et al., 2017).

Por otra parte, se ha demostrado que el sistema AI-1 regula la expresión de numerosos factores de virulencia en *A. hydrophila*, que incluyen la producción de exoproteasa, hemolisina (*hlyA*, *ahh*), amilasa (*amy*), ADNasa, la capa S (*ahsA*), la producción de pigmentos y efectores asociados a T6SS en los mutantes con la delección en los genes *ahyl* y *ahyR*, además de estar asociado con la maduración de las biopelículas (Jin et al., 2020).

En el sistema auto inductor tipo 2 (AI-2) la estructura química del auto inductor está altamente conservada entre diversas especies bacterianas, gracias a esto las bacterias pueden reconocer las señales liberadas por otros géneros. Este sistema es el resultado final del ciclo del metilo activado y su precursor es catalizado por la enzima S-ribosilhomocisteína liasa (LuxS), que es una metaloenzima con estructura homodimérica (Meng et al., 2017).

Las moléculas auto inductoras de AI-2 es la molécula hidrolizada de 4,5-dihidroxi-2,3-pentanodiona (4,5-DPD), (Kozlova et al., 2012), está es sintetizadas por la enzima LuxS, cuyos productos son la 4,5-DPD, la homocisteína y varias furanonas (Ali et al 2018), este compuesto se difunde libremente a través de las membranas bacterianas de una gran

variedad de bacterias Gram positivas y Gram negativas como *Aeromonas* spp. (Talagrand et al., 2017). Los análisis genómicos de *A. hydrophila* HX-3 revelaron los genes centrales que están involucrados en la síntesis AI-2, y codifican las proteínas MtnN, Luxs, Meth, MetE, MetK y la metiltransferasa SAM; es probable que estos genes tengan un papel importante en la regulación del sistema AI-2, sin embargo, el mecanismo regulador sigue sin estar claro y hasta el momento el estudio es solo a nivel genético (Jin et al., 2020). En el estudio de Meng y colaboradores en 2017 demostraron que la actividad de AI-2 existe en *A. salmonicida* en la que se sugiere que LuxS desempeña un papel doble, como regulador del metabolismo celular y de la expresión del gen *vapA* que expresa la proteína de la capa A (factor de virulencia), la cual proporciona a la bacteria una protección contra el sistema inmune del huésped.

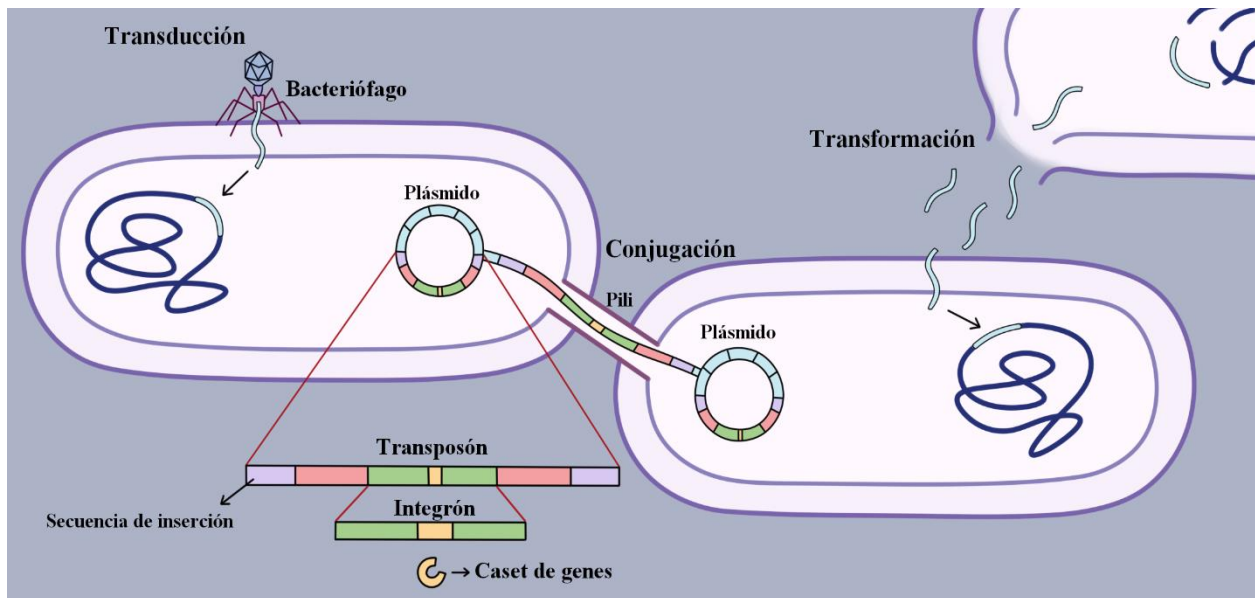
Sistema auto inductor tipo 3 (AI-3). La señal del sistema AI-3 es una N-acil homoserina lactonas, que es reconocida por el sistema QseBC, constituido por dos componentes; en el que QseC es el sensor cinasa y QseB el regulador de respuesta, estas moléculas de señalización son producidas por bacterias cuando se encuentran en el microbiota gastrointestinal (Talagrand et al., 2017). El sistema QseBC está presente en *A. hydrophila*, esto se evidenció mediante la delección del gen *qseB*, cuyo resultado fue la disminución de la motilidad de natación y enjambre de la bacteria, aumentó la formación de biopelículas, al regular de forma negativa a los genes *fleN* (regula el número flagelar) y *vpsT* (regulador de la respuesta transcripcional), además de la reducción de la actividad hemolítica de *A. hydrophila* y de la proteasa asociada con Act (Rasmussen et al., 2016). De igual forma, *A. hydrophila* presento una estrecha relación entre los sistemas AI-1 y QseBC (AI-3), se observó que los niveles de transcripción de los genes *qseB* y *qseC* aumentaron en la mutante *ahyRI*, mientras que los genes *ahyR* y *ahyI* tuvieron una regulación negativa en el mutante *qseB*, que se correlacionó con una disminución de la actividad de la proteasa, además de que en el sistema QseBC modula a el segundo mensajero cíclico-di-guanina monofosfato (c-di-GMP), que regular la expresión de los genes de virulencia bacteriana (Kozlova et al., 2012). Con base en el análisis genómico, se encontraron marcos de lectura abiertos para los genes *qseB* y *qseC* en el genoma de *A. hydrophila* HX-3, también se identificó una región promotora con una secuencia Shine-

Dalgarno (DS) como responsable de la transcripción de *qseBC*, a pesar de esto, la información sobre el metabolismo de AI-3 en *A. hydrophila* es limitada (Jin et al., 2020).

6.3 Elementos genéticos de *Aeromonas* que le confieren resistencia a antibióticos

El conjunto total de genes que constan de elementos genéticos móviles (MGE) como plásmidos, integrones, transposones, casetes de genes asociados a integrones, bacteriófago, secuencias de inserción (IS) encargados de movilizar los genes se le conoce como “mobiloma” (Piotrowska & Popowska, 2015). Los elementos móviles parecen estar involucrados en la plasticidad genómica de las *Aeromonas*, lo que les confiere resistencia a antibióticos y a diversas condiciones ambientales. Estos MGE pueden mediar el movimiento del ADN y facilitar la transmisión de material genético entre diversos individuos, lo que facilita la obtención de varios genes funcionales entre bacterias, aumentando no solo su resistencia si no también su virulencia según su entorno, presentando diversidad de genes de virulencia tanto en especies aisladas de *Aeromonas* como en comunidades de bacterias (Zhong et al., 2019). En organismos procariontes la obtención de este ADN puede ser dada por transformación que se da al incorporar ADN exógeno al cromosoma de la bacteria, la transducción que es la transferencia de ADN mediada por bacteriófagos y la conjugación el cual es una forma activa de transferencia y propagación de genes, mediante plásmidos conjugativos (Bello-López et al., 2019). En el género *Aeromonas* se han descrito estos procesos de transferencia genética horizontal y se han representado en la figura 6, resultado de este trabajo.

Figura 6. Mecanismos de transferencia horizontal de material genético de *Aeromonas*



El ADN es representado en color azul claro, que proviene del bacteriófago, la célula donante, el plásmido y transposón obtenidos por los procesos de transferencia horizontal: Transducción, transformación y conjugación.

6.3.1 Plásmidos

Los plásmidos pueden transportarse y transferirse entre bacterias de diferentes especies, y están involucrados en la conjugación. En *Aeromonas* se confirmó que los plásmidos le confieren la resistencia a múltiples fármacos (Del Castillo et al., 2013; Piotrowska & Popowska, 2015).

Los análisis en *Aeromonas* spp. mostraron que contienen diversos grupos de incompatibilidad de plásmidos, se encuentra con mayor frecuencia el grupo IncA/C, este es considerado un riesgo para la salud pública porque contiene genes de resistencia a betalactámicos (*blaSHV*, *blaCMY*), aminoglucósidos (*strAB*, *aadA*, *aphA*, *aacC*, *aphA*), tetraciclinas (*tetRA*), sulfonamidas (*sul1*, *sul2*), trimetoprima (*qacE1*, *sugE1*), compuestos de amonio cuaternario (*qace1*, *sugE1*, *sugE2*) y genes de resistencia a mercurio por la expresión de los genes *merRTPCADE* (Fricke et al., 2009), y IncU, que contiene el gen *qnrS2* que confiere una alta resistencia a quinolonas y fluoroquinolonas (Cattoir et al., 2008).

En *Aeromonas* se han identificado a los plásmidos pR148 o pAsa4 que pertenecen al grupo IncA/C, los cuales confieren resistencia a mercurio por la presencia de los genes *mer* (Piotrowska, & Popowska, 2015).

En *Aeromonas* se ha demostrado la transferencia del gen *qnr*, vía plásmido, a *Escherichia coli*, a *Shewanella algae* y *Vibrio splendidus* (Cattoir et al., 2008; Jacoby & Hooper, 2013).

En el estudio de Vincent y colaboradores (2014) identificaron al plásmido pSN254b de 152 kb, a partir de aislados de peces de *A. salmonicida*, la prevalencia de este plásmido se explica por su capacidad para transferirse por conjugación (Trudel et al., 2016), este plásmido alberga a los genes de resistencia al cloranfenicol (*floR*), florfenicol (*floR*) (Gordon et al., 2018), estreptomicina (*aadA*), espectinomicina (*aadA*) (Fauzi et al., 2021), tetraciclina (*tet*), sulfonamida (*sul1*), antibióticos betalactámicos (*blaCMY-2*), compuestos de amonio cuaternario (*sugE2*) y mercurio (*merA*, *merB*, *merD*, *merE*, *merP*, *merR*, *merT*) (Piotrowska, & Popowska, 2015).

En *A. salmonicida* se identificó el plásmido pS121-1a (Du et al., 2019) que contiene genes de resistencia a aminoglucidos, betalactámicos, fluroquinolonas, macrólido-lincosamida-estreptogramina B, fenicol, sulfonamida, tetraciclina y trimetoprim.

Por otra parte, en *A. veronii* se describió el plásmido pASP-a58 que confiere resistencia a aminoglucidos, betalactámicos, fluroquinolonas, macrólido-lincosamida-estreptogramina B, fenicol, sulfonamida, tetraciclina, trimetoprim, mercurio y rifampicina. Los genes más prevalentes en los plásmidos pASP-135, pS44-1, pWCX23_1 y pASP-135 son los genes de resistencia a las sulfonamidas *Sul1*, el gen *aac (6')-Ib-cr* resistente a los aminoglucósidos y el gen *blaKPC-2*, que codifica la carbapenemasa (Hughes et al., 2016; Nwaiwu & Aduba, 2020).

En *A. hydrophila* se determinó el plásmido pWCX23_1 que contiene genes de resistencia para aminoglucidos, betalactámicos, fluroquinolonas, macrólido-lincosamida-estreptogramina B, fenicol, sulfonamida, tetraciclina y trimetoprim; otro plásmido identificado en esta especie es el pSS332-218k con resistencia a ampicilina, cefazolina, cefoxitina, ceftazidima, eritromicina y roxitromicina, además contiene el gen *bla* AFM-1 genómico, este plásmido puede mejorar la adaptabilidad de las bacterias al medio ambiente y promueve la propagación de este gen entre diferentes bacterias (Lin et al.,

2021), y pR148 que otorga resistencia a betalactámicos, compuestos de amonio cuaternario (QAC), cloranfenicol, tetraciclina y aminoglucósidos (Del Castillo et al., 2013).

A pesar de tener poca información sobre la transformación natural en *Aeromonas* se ha demostrado que adquirió resistencia a colistina, con el plásmido pI064-2 que contiene el gen *mcr-5*, el cual se ha descrito en diversos géneros de bacterias, evidenciando su capacidad de diseminación (Ma et al., 2018). De igual forma se describió la transformación de *A. taiwanensis*, al adquirir los genes de resistencia a carbapenémicos y quinolonas, albergados en el plásmido pEC1002-MCR obtenido de *E. coli* (Hu et al., 2019).

6.3.2 Integrones

Los integrones son elementos genéticos de gran tamaño que generalmente codifican secuencias con resistencia a antibióticos, estos se incorporan mediante recombinación sitio-específica por la actividad de la integrasa. Estos integrones son clasificados desde la clase 1 hasta la 4 según las secuencias de las integrasas que contengan (Otero et al., 2020).

En *Aeromonas* los integrones de clase 1 transportan diferentes casetes de genes asociados a resistencia, como los genes *aadA1*, *aadA2* que confieren resistencia a aminoglucósidos y los genes *dfrA1* y *dfrA12* otorgan resistencia a trimetoprima (Piotrowska, & Popowska, 2015; Ranjbar et al, 2019). Estos datos son similares a los encontrados en el estudio de Deng y colaboradores (2016) en el que se encontró que la mayoría de los aislamientos de *Aeromonas* de animales de agua dulce portaban integrones de clase 1, que albergan a los genes *addA2* (estreptomicinas) y *dfrA12* (trimetoprima), también se localizaron a los genes *aac(6')-Ib-cr* (ciprofloxacina), *tetA* (tetraciclinas), *blaCTX-M-3* y *bla TEM-1* (betalactámicos).

En el estudio realizado por Otero y colaboradores (2020) encontraron una incidencia inusualmente alta de integrones clase 2 en cepas ambientales de *Aeromonas*, además reportaron sensibilidad a antibióticos en estas cepas a pesar de la presencia de genes de resistencia a trimetoprima, la estreptomicina y la estreptotricina.

En aislados de *Aeromonas* se describieron los integrones intI1, intI2 e intI3, mediante la amplificación de las regiones conservadas de los genes de la integrasa por PCR, también se analizó el polimorfismo de la longitud del fragmento de restricción (RFLP) e identificaron los integrones de clase 1 y 2, además, detallaron que *Aeromonas* presenta mayor incidencia de los integrones clase 2 (Dhanapala et al, 2021).

6.3.3 Transposones

Los transposones están compuestos básicamente por una transposasa (producto del gen *tnpA*), una resolvasa (codificado por el gen *tnpR*) y genes adicionales que generalmente conceden resistencia a antibióticos (Figura 6). Los más comunes son los incluidos en la familia Tn3, y son los principales responsables de la diseminación de genes de resistencia a antibióticos en bacterias Gram negativas (Carnelli et al, 2017).

Los transposones conjugativos son capaces de separarse del ADN genómico, se integran en una distinta ubicación en el genoma o se transfieren empleando la maquinaria conjugativa, y se insertan en los genomas de diferentes células bacterianas, de manera similar a los plásmidos (Huddleston. 2014).

En *Aeromonas* se han identificado diversos transposones ubicados en plásmidos y cromosomas, como los Tn3, Tn21, Tn1213, Tn1721, Tn4401; así como los transposones Tn21 que está involucrado en la resistencia a mercurio y el Tn1721 que confiere la resistencia a la tetraciclina a través de los genes *tetA/R* (Piotrowska, & Popowska, 2015).

En el estudio de Adamczuk y Dziewit (2017) identificaron en *Aeromonas* spp. ARM8 el transposón Tn5393k que contiene los genes *blaPER-1* que son capaces de degradar betalactámicos, además de *aph (3')-VIb*, *aph (3'')-Ib* y *aph(6)-Id* que les confieren resistencia a aminoglucósidos, este hallazgo junto con la identificación de plásmidos sugiere que la cepa ARM81 participa activamente en la transferencia horizontal de genes en el medio ambiente.

En *Aeromonas* el gen *tet* (E) está localizado en el transposón Tn 6433 (perteneciente a la familia Tn3) y codifica la resistencia a la oxitetraciclina, secuencias similares a Tn 6433-tet(E) se encontraron en los cromosomas y en los plásmidos, lo que sugiere que Tn 6433

controla la transposición de *tet* (E) del cromosoma al plásmido pAeca2, y permite su diseminación (Shi et al, 2020).

La resistencia a colistina y polimixina B de *A. veronii* es conferida por el transposón Tn6518 que contiene el gen *mcr-3.6*, que presenta variantes como: *mcr-3.3* y *mcr-3.13* a *mcr-3.18*, este gen fue identificado por primera vez en *E. coli*; sin embargo, las variantes del gen se han encontrado en varios aislados ambientales de *Aeromonas*; este hallazgo es alarmante debido a que las variantes de *mcr-3* podrían diseminarse entre las diferentes especies y géneros bacterianos con las que las *Aeromonas* interactúan (Wang et al., 2021).

Se reportó una menor presencia de transposones en los aislados de *A. hydrophila* y *A. veronii* (patógenos de humanos), en comparación a los aislados ambientales de *A. salmonicida* que albergan mayor variedad de estos MGE (Pfeiffer et al, 2018). Sin embargo, esto no necesariamente significa una mayor resistencia a antibióticos, de forma contraria se ha descrito una mayor resistencia en cepas clínicas que en las ambientales, lo que sugiere que las cepas ambientales pueden adquirir resistencia a partir de cepas clínicas (Esteve & Giménez, 2015).

6.3.4 Bacteriófagos

Los bacteriófagos son virus que infectan bacterias, que se replican dentro de estas, se consideran temperados si se integran en el genoma del hospedador y se convierten en profagos hasta que las condiciones ambientales desencadenan su crecimiento lítico, (Park et al, 2020). La información sobre la transferencia de genes que confieren resistencia a través de bacteriófagos es muy limitada a diferencia de otros mecanismos; sin embargo, recientemente se ha vuelto más claro el papel de los bacteriófagos en la transducción de genes de resistencia a antibióticos, esta ocurre cuando un bacteriófago que se ha replicado en el interior de una bacteria empaqueta una porción de DNA del huésped en la cabeza del fago y la transfiere a otra célula bacteriana (Huddleston. 2014). Se ha demostrado y descrito que en los entornos acuáticos presentan condiciones favorables que permiten la transferencia mediada por bacteriófagos, esta es facilitada gracias a la formación de las biopelículas bacterianas acuáticas adheridas a diferentes tipos de sedimentos, la cual permite grandes concentraciones bacterias, fagos y agentes

de transferencia en el agua, de este forma se permiten la diseminación de genes resistencia a antibióticos, mediante la liberación de ADN bacteriano generada por la acción lítica de los bacteriófagos (Pepi y Focardi, 2021).

En el estudio de Vincent y colaboradores (2017) describieron que *A. salmonicida* es susceptible a infecciones por diversos grupos de fagos virulentos y temperados, cuyos receptores están localizados en la capa A, factor de la virulencia de esta especie, y que esta estructura permite la integración de su genoma en el cromosoma bacteriano.

6.4 Mecanismos de resistencia antibióticos

6.4.1 Enzimas inactivadoras de antibióticos

Un mecanismo importante implicado en la resistencia bacteriana es la producción de enzimas inactivadoras que degradan o inactivan a los antibióticos, esto debido a que varios antibióticos presentan enlaces químicos como amidas y ésteres que son susceptibles a la hidrólisis de enzimas producidas por bacterias (Blair et al., 2015). La resistencia de *Aeromonas* a los betalactámicos se debe a su capacidad para sintetizar enzimas extracelulares tipo: β -lactamasa, acilasa y penicilinasas, que hidrolizan el enlace amida del anillo betalactámico de los antibióticos betalactámicos, lo que limita la permeabilidad de las membranas citoplasmáticas a estos antibióticos (Zdanowicz et al., 2020).

Aeromonas es capaz de producir tres β -lactamasas, una cefalosporina clase C, una penicilinasas clase D y una metalo- β -lactamasas de clase B (MBL), codificadas por los genes blaIMP, blaCphA/IMIS, blaTEM y blaSHV (Vega et al., 2014). Se ha registrado el aumento de cepas de *Aeromonas* que producen una amplia gama de β -lactamasas, esto puede convertirse en un problema de salud pública mundial (Fosse et al., 2003).

En *Aeromonas* y en una gran variedad de bacterias gram negativas se identificó a la enzima AmpC que es una β -lactamasas, cuyo gen se encuentra en el cromosoma (Vega et al., 2014). En *A. hydrophila* se han encontrado varias β -lactamasas de clase C, como CepS y CepH (Bush & Bradford, 2020).

Varias especies acuáticas de *Aeromonas* portan la metalo- β -lactamasa CphA, que tiene un perfil de sustrato único, ya que hidrolizan selectivamente los penems y carbapenémicos, pero no a las penicilinas ni las cefalosporinas (Bush & Bradford, 2020).

En bacterias Gram negativas la resistencia a las quinolonas se debe principalmente a mutaciones cromosómicas de las regiones determinantes de la resistencia a las quinolonas (QRDR) de los genes *gyrA* y *parC* que codifican las enzimas ADN girasa y topoisomerasa IV, en *A. salmonicida*, las mutaciones en las regiones QRDR de estos genes, si le otorgaron la resistencia este antibiótico. (Alcaide et al., 2010). La ADN girasa y la topoisomerasa IV son heterotetrámeros que constan de dos tipos de subunidades: GyrA, GyrB y ParC, ParE, respectivamente. Los genes que codifican estas subunidades también se han relacionado con la resistencia a las quinolonas en *A. hydrophila* (especie móvil), y *A. salmonicida*, no móvil (Goñi et al., 2002; Alcaide et al., 2010).

6.4.2 Bombas de flujo

Las bombas de flujo son un componente bacteriano muy importante que participa en la expulsión de sustancias tóxicas para la célula, incluidos múltiples fármacos (MDR) tipo antibióticos (Li et al., 2015), debido a que existe una gran diversidad de transportadores de expulsión, su clasificación se basa en el análisis filogenético de las secuencias proteicas, como resultado de este análisis se han organizado en 5 familias: la división de Nodulación de Sustancias (RND), Superfamilia de Facilitadores Principales (MFS), Casete de Unión de ATP (ABC) Familia de Resistencia (SMR) y Obstrucción de Compuestos Tóxicos y Múltiples Fármacos (MATE) (Daury et al., 2016; Seukep et al., 2020).

Al secuenciar el genoma de *A. hydrophila* se ha encontrado que contiene alrededor de 10 sistemas tipo RND, entre los cuales está el sistema AheABC involucrado en el fenotipo de multirresistente: MDR (Li et al., 2015). Además, se encontró que las pruebas de inhibición por fenilalanina-arginina- β -naftilamida (PA β N) indicaron que hay otras bombas de expulsión de tipo RND, que contribuyen a la resistencia intrínseca de *A. hydrophila* (Hernould et al., 2018).

Por otra parte, un estudio proteómico correlacionó la resistencia a oxitetraciclina de *A. hydrophila*, con el incremento en la expresión de genes implicados en el metabolismo de manitol y las bombas de flujo, en comparación con el metabolismo de la cepa sensible; además se observó una disminución en la regulación de los genes implicados en el metabolismo de sulfuro (Yu et al., 2021). De forma similar, se encontraron proteínas de

membrana plasmática que confieren resistencia a acriflavina, homólogo de la bomba de eflujo AheABC, expresada por el gen AHA_0022 y la proteína de la familia TetR (AHA_0023) con función de un regulador transcripcional, que regula metabolismo general, QS y resistencia a antibióticos, estos cambios metabólicos podrían contribuir con la resistencia a antibióticos (Yu et al., 2021).

En *A. hydrophila* se describió una elevada expresión de 3 genes putativos AHA0021, AHA1320 y AheB en las cepa clínicas multirresistente en comparación a la cepa tipo ambiental, la traducción *in silico* de estos genes codifican bombas de salida tipo RND, de igual forma se confirmó que el uso de PAβN reduce las concentraciones de piperacilina/tazobactam, imipenem, eritromicina y polimixina, respaldando la contribución del sistema de salida RND en aislados de *A. hydrophila* a la multirresistencia a antibióticos (Lo et al, 2022).

En otro estudio, se registró que el sistema TonB (transportador de energía) está implicado en la resistencia a macrólidos, debido a que su inactivación inhibe la función de la salida de macrólidos mediada por la bomba de eflujo MacA2 B2 de *A. hydrophila* (Dong et al, 2021). Por otra parte, en *A. veronii* se evidenció que el gen Hfq regula de forma positiva la expresión de las bombas de flujo que le confieren resistencia a trimetropima (Wang et al, 2021).

6.5 Perfiles de resistencia a antibióticos de *Aeromonas*

En algunas especies de *Aeromonas* se ha identificado el perfil de resistencia a antibióticos, y se ha observado diferentes perfiles de resistencia, por lo que en este trabajo se ha organizado esta información en la tabla 1. En esta tabla se muestran los resultados obtenidos de diversos estudios de resistencia en *Aeromonas* patógenas de peces, mamíferos y aislados ambientales, lo que más destaca es la gran variedad de genes que confieren resistencia a betalactámicos y aminoglucósidos que posee este género. Otro patrón importante es la multirresistencia de las cepas clínicas humanas y patógenas de peces de *A. hydrophila* y *A. veronii* en comparación a las ambientales.

Tabla 1. Resistencia a antibióticos de algunos aislados de *Aeromonas* documentadas en los últimos 10 años.

Especie	Fuente o aislamiento	genes	Resistencia a antibióticos	Referencia
<i>A. hydrophila</i> RYU-N-27	paciente hospitalizado	<i>intl1, blaGES-24, aac(6')-Ic, qacEdelta1, sul1, orfX, tetR, tetE</i>	azitromicina, cefepima, cefmetazol, cefotaxima, Imipenem, Meropenem, Moxalactama, Penicilina	Uechi et al., 2018
<i>A. hydrophila</i>	peces enfermos	<i>ispE, dxs, ndk, fadA</i>	penicilina, ampicilina, estreptomina, gentamicina	Zhu et al., 2020
<i>A. veronii</i> Ae52	riñón de pez dorado	<i>strB, aph(3')-Ia, aadA2, strA, mph(A), sulf1, tet, blaOXA, blaCEPH, catA2, catB1</i>	betalactámicos, aminoglucósidos, sulfonamidas, cloranfenicoles, tetraciclinas, fluoroquinolonas, macrólidos y nitrofuranos	Jagoda et al., 2017
<i>A. veronii</i>	aislado clínico	<i>cphA</i>	ampicilina ampicilina-sulbactam y amoxicilina-ácido clavulánico	Prediger et al., 2020
<i>A. salmonicida</i>	peces	<i>floR, sul2, tetA, tetR, tet(H), tet(Y), y strB</i>	Tetraciclina, sulfonamida, estreptomina, espectinomina, cloranfenicol y florfenicol	Vincent et al., 2014

<i>A. salmonicida</i> SHY16-3432	Peces enfermos	<i>tetA, tetR, sul1, aadA2, blaPSE-1, tetG, tetC y floR</i>	Tetraciclina, sulfonamidas, estreptomycin, espectinomycin, ampicilina-carbenicilina, florfenicol-cloranfenicol	Massicotte et al., 2019
<i>A. aquariorum</i>	aislamientos clínicos	<i>blaPSE, blaMOX, blaTEM, sul1, sul2, dfr</i>	amoxicilina, amoxicilina-ácido clavulánico, gentamicina, trimetoprima y kanamicina	Puah et al., 2013
<i>Aeromonas</i> spp.	Aislados de peces, agua de estanque y biopelículas	<i>qnrA, qnrB, aac6lb 01, aac6lb02, tetB2, tetC-02, tetD-02, tetG-02, tetM1, dfrA1-1, dfrA1-2, sul1, strB, floR-1, mexF, blaSHV-01, bla-IMP2 y bla-KPC3</i>	quinolonas, tetraciclina, sulfonamida-trimetoprima, florfenicol, polimixina, β-lactámicos, oxitetraciclina, enrofloxacin, colistina, ácido oxolínico, flumequina y trimetoprima-sulfametoxazo	Hayatgheib et al., 2021
<i>Aeromonas</i> spp.	Aislados clínicos	<i>blaTEM, blaSHV, blaCTX-M, tetAB, tetE, qnrAB, qnrS, sul1, sul2, arma, aphAI-IAB, aac(3)-IIa, aac(6')-Ib y mcr1234</i>	Aminoglucósidos, betalactámicos, sulfonamidas, colistina, tetraciclina, cefepima y ciprofloxacina	Shuang et al., 2020

<i>Aeromonas</i> spp.	Peces	<i>tet(E), tet(A), sul2, qnrS1 y qnrS2</i>	Oxitetraciclina, tetraciclina, sulfametoxazol-trimetoprima, ácido oxolínico, enrofloxacina y flumequina	Syrova et al., 2018
-----------------------	-------	--	---	---------------------

La resistencia es conferida por expresión de los genes: *bla*: betalactámicos; *tet*: tetraciclinas; *aadA*: estreptomycin; *floR*: florfenicol; *sul*: sulfonamidas; *dfr*: trimetoprima: *aac, aph, arma, ispE, dxs, ndk, fadA*; aminoglucósido; *qnr*: quinolonas: *mcr*: colistina; *gyr, par*: fluoroquinolonas; *str*: estreptomycin; *cat*: cloranfenicol.

Actualmente el reto del tratamiento de las enfermedades bacterianas con antibióticos es la alta resistencia a antibióticos que presentan bacterias patógenas como *Aeromonas*, y esto representa un riesgo para la salud (Zdanowicz et al., 2020).

Por lo antes documentado en este trabajo, se plantea la correlación entre la presencia de genes, la actividad bioquímica y la influencia del medio ambiente en la presencia y el incremento de la resistencia a antibióticos del género *Aeromonas*.

7. DISCUSIÓN

Los diferentes perfiles de resistencia del género *Aeromonas* que se han sido investigados y compilados en este trabajo se observó que varían en función del hábitat de la bacteria, las relaciones parasíticas que establece con otros organismos, así como los cambios ambientales a los que esta expuesta la bacteria.

Los patrones más frecuentes de resistencias en *Aeromonas* obtenidas de muestras de sangre son a las penicilinas, cefalosporinas, y carbapenémicos, clasificados como betalactámicos (Li et al., 2018), esto concuerda con la resistencia observada en aislados clínicos intestinales y extraintestinales de *Aeromonas* sp, que presentaron resistencia a betalactámicos, tetraciclinas y aminoglucósidos (Dahanayake et al, 2019).

Se realizó un estudio en granjas de anguilas y bagres, en donde la mayoría de los aislados pertenecieron al género *Aeromonas* y presentaron resistencia a oxitetraciclina (Penders & Stobberingh, 2008); de forma similar se reportó en aislados de peces cebras la resistencia a oxitetraciclina, además de presentar resistencia a amoxicilina y ácido

nalidíxico, esta característica de multi-resistencia fortalece el potencial de virulencia de *Aeromonas* spp. patógenas (Hossain et al., 2018).

También se han reportado diferentes patrones de resistencia para aislados clínicos de *Aeromonas* spp., obtenidos del Hospital General de Singapur y del Centro Médico de la Universidad de Malaya, los aislados de ambos hospitales presentaron resistencia a cloranfenicol, tetraciclina, ciprofloxacina y norfloxacina, mientras que las cepas de Singapur registraron resistencia a cefotaxima, ciprofloxacino, y la norfloxacina; y las de Malasia presentaron resistencia a cefalotina y gentamicina (Khor et al., 2018).

Así mismo, en aislados de peces de *A. salmonicida* que porta el plásmido pAsa7, que contiene el gen *cat*, y confiere resistencia a cloranfenicol; es importante mencionar que los aislados del 2019 fueron resistentes a ciprofloxacina y ofloxacina, a diferencia de los aislados del 2016 al 2018 en los que carecieron de estas resistencias, esto sugiere que la bacteria es capaz de modificar el perfil de resistencia (Vincent et al., 2019).

Por otra parte, se observó que los aislados ambientales de *Aeromonas* spp. tienen una clara dinámica estacional, en verano la población bacteriana es mayor en comparación al otoño. Además, estos aislados ambientales presentan una mayor resistencia a betalactámicos (amoxicilina, ampicilina, penicilina) y a lincosamidas (clindamicina), este patrón es similar a lo reportado en cepas clínicas, la diferencia es que ninguna de las cepas ambientales mostró resistencia a estreptomina y gentamicina (Zdanowicz et al., 2020).

En contraste, si hay reporte de cepas ambientales multirresistentes, como *A. hydrophila* que mostro resistencia a ácido nalidíxico, cefalotina, ticarcilina, tetraciclina y sulfametoxazol, sin embargo, en estos dos últimos antibióticos la resistencia fue menor a lo reportado en aislados clínicos (Shuang et al., 2020), esto podría deberse a las diferentes presiones selectivas por el uso de antibióticos en humanos y ambientes acuáticos (Figueira et al., 2011); además, se han registrado otros perfiles de resistencia para aislados de *Aeromonas* a partir de agua, el 40% de los aislados fueron resistentes a fosfomicina, ácido nalidíxico, cefotaxima, el 26,67% presentaron resistencia a gentamicina, tobramicina y cotrimoxazol. Asimismo, se encontró que más del 70% de los aislados eran susceptibles a cloranfenicol, trimetoprim-sulfametoxazol y tetraciclina (Gomes et al., 2021).

Existen genes en que contribuyen directa o indirectamente en la resistencia a antibióticos en diversas especies de bacterias del medio ambiente, así como patógenos de importancia clínica como lo son las *Aeromonas*, a este conjunto de genes se les conoce como “resistoma”, estos constan de genes de resistencia de microorganismos ambientales, genes de resistencia de bacterias patógenas, genes intrínsecos presentes en los cromosomas bacterianos que contribuyen a la resistencia y genes que codifican proteínas con actividad metabólica que pueden ser precursoras de genes de resistencia a antibióticos (Bello-López et al., 2019). El resistoma se divide en 'resistoma intrínseco o innato' y 'resistoma extrínseco o adquirido', el primero es el conjunto de genes que participan en la resistencia innata del organismo, su presencia en cepas de una especie bacteriana es independiente a la exposición previa a antibióticos, y no está relacionada con la transferencia horizontal de genes (THG), mientras que el extrínseco o adquirido, se define como el conjunto de genes adquiridos con cambios simples o múltiples en el genoma, que pueden heredarse de manera estable de generación en generación o vía THG (Galán et al. 2013).

Otro elemento que favorece la multirresistencia bacteriana es la formación de las biopelículas, se ha detectado que el uso de antibióticos como florfenicol y la oxitetraciclina aumentan la formación de biopelículas en los aislados de *A. salmonicida*, como mecanismo de respuesta ante este estrés ambiental (Zhou et al., 2019). También, se ha estudiado las biopelículas de acuíferos recargados con aguas pluviales, en estas estructuras se aislaron a *Aeromonas*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Shewanella* y *Vibrio*, estas comunidades bacterianas presentaron genes de resistencia; cassette de unión a ATP, proteínas de extrusión de compuestos tóxicos, pequeñas bombas de eflujo y complejos de eflujo de múltiples fármacos. En *Pseudomonas* y *Aeromonas* se identificaron principalmente los genes para betalactamasas; mientras que los genes que codifican la resistencia a la tetraciclina y vancomicina fueron encontrados en otros géneros, estos resultados sugieren que los microorganismos que crecen en biopelículas pueden servir como reservorio de cepas resistentes a diferentes antibióticos y transferir genes de resistencia entre géneros (Sidhu et al., 2020).

Por otra parte, se ha revelado el impacto del regulador global LuxS en la resistencia a los antibióticos, la regulación de la formación de la biopelícula, el metabolismo central y el

QS mediante el sistema AI-2; en las cepas de *A. hydrophila* se disminuyó la biosíntesis de LuxS con el tratamiento de 1 µg/ml de oxitetraciclina y el inhibidor LuxZ (-)-dimetil(-)-2,3-O-isopropiliden-l-tartrato, y se observó una baja en la tasa de crecimiento de la bacteria (Ali et al., 2018).

La Organización Mundial de la Salud ha identificado el cambio climático como uno de los principales impulsores de las enfermedades infecciosas emergentes a nivel mundial, en estudios poblacionales han identificado que las variaciones de temperatura (Grilo et al., 2021) podrían modificar y acelerar la resistencia a varios antibióticos, así mismo, se ha documentado que el incremento de 10 °C, puede causar que *E. coli*, *K. pneumoniae* y *S. aureus* aumenten la resistencia a los antibióticos en un 4.2%, 2.2% y 2.7% respectivamente (MacFadden et al., 2018); por lo anterior, existe la preocupación de que otras bacterias Gram negativas como *Aeromonas* tengan un comportamiento similar.

En *Aeromonas* se sugiere un efecto bifásico de la temperatura y el pH ambiental; por una parte, el crecimiento de *Aeromonas* se ve favorecido en ambientes ácidos, este cambio en el pH se ha asociado a la modificación del perfil de resistencia antimicrobiana. Por otro lado, la temperatura afecta la transferencia horizontal de genes y las mutaciones de novo (incluida la recombinación), estos cambios ambientales podrían explicar los cambios de la resistencia a los antibióticos en ausencia de determinantes de resistencia o presión antimicrobiana en el medio ambiente (Grilo et al., 2021).

8. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

En esta revisión se ha copilado, descrito y comparado las diferentes características fenotípicas y genotípicas del género *Aeromonas*, como la gran variedad de factores de virulencia, lo que facilita que infecte a diversos organismos incluido el hombre, lo que sugiere que este género sea considerado como un riesgo para la salud pública.

Aunado a esto, cada vez hay más estudios de *Aeromonas* que describen los mecanismos de resistencia a antibióticos como las betalactamasas y bombas de eflujo.

Por otra parte, en *Aeromonas* se ha estudiado que la multirresistencia a antibióticos y la patogenicidad incrementa cuando la temperatura aumenta, este aumento es debido a las actividades antropogénicas y procesos naturales, lo que perfila a *Aeromonas* como un patógeno emergente, y es de suma importancia generar conciencia respecto al uso

indiscriminado de antibióticos en ambientes acuáticos, crianza de peces y administración en humanos.

Este trabajo plantea como perspectivas llevar a cabo la investigación a nivel experimental sobre los factores de virulencia, el perfil de resistencia a antibióticos, la transferencia horizontal de material genético en cepas aisladas de *Aeromonas* a partir del ambiente, de pacientes enfermos y aislados de peces. Así como determinar si los aislados de diferente origen presentan un perfil como bacteria patógena, patógena oportunista o no patógena.

9. REFERENCIAS

1. Adamczuk, M., & Dziewit, L. (2017). Genome-based insights into the resistome and mobilome of multidrug-resistant *Aeromonas* sp. ARM81 isolated from wastewater. *Archives of microbiology*, 199(1), 177-183.
2. Alcaide, E., Blasco, M. D., & Esteve, C. (2010). Mechanisms of quinolone resistance in *Aeromonas* species isolated from humans, water and eels. *Research in Microbiology*, 161(1), 40-45.
3. Ali, F., Yao, Z., Li, W., Sun, L., Lin, W., & Lin, X. (2018). In-silico prediction and modeling of the quorum sensing LuxS protein and inhibition of AI-2 biosynthesis in *Aeromonas hydrophila*. *Molecules*, 23(10), 2627.
4. Ayyal, N. M., Abbas, Z. A., Karim, A. J., Abbas, Z. M., Al-Salihi, K. A., Khalaf, J. M., ... & Abdul-Majeed, D. I. (2019). Bacterial isolation from internal organs of rats (*Rattus rattus*) captured in Baghdad city of Iraq. *Veterinary World*, 12(1), 119.
5. Barger, P. C., Liles, M. R., & Newton, J. C. (2020). Type II secretion is essential for virulence of the emerging fish pathogen, hypervirulent *Aeromonas hydrophila*. *Frontiers in veterinary science*, 706.
6. Batra, P., Mathur, P., & Misra, M. C. (2016). *Aeromonas* spp.: an emerging nosocomial pathogen. *Journal of laboratory physicians*, 8(01), 001-004.
7. Beaz-Hidalgo, R., & Figueras, M. J. (2013). *Aeromonas* spp. whole genomes and virulence factors implicated in fish disease. *Journal of fish diseases*, 36(4), 371-388.
8. Bello-López, J. M., Cabrero-Martínez, O. A., Ibáñez-Cervantes, G., Hernández-Cortez, C., Pelcastre-Rodríguez, L. I., Gonzalez-Avila, L. U., & Castro-Escarpulli, G.

- (2019). Horizontal gene transfer and its association with antibiotic resistance in the genus *Aeromonas* spp. *Microorganisms*, 7(9), 363.
9. Bhowmick, U. D., & Bhattacharjee, S. (2018). Bacteriological, clinical and virulence aspects of *Aeromonas*-associated diseases in humans. *Polish Journal of Microbiology*, 67(2), 137.
 10. Bush, K., & Bradford, P. A. (2020). Epidemiology of β -lactamase-producing pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(2), e00047-19.
 11. Carnelli, A., Mauri, F., & Demarta, A. (2017). Characterization of genetic determinants involved in antibiotic resistance in *Aeromonas* spp. and fecal coliforms isolated from different aquatic environments. *Research in Microbiology*, 168(5), 461-471.
 12. Carvalho, M. J., Martínez-Murcia, A., Esteves, A. C., Correia, A., & Saavedra, M. J. (2012). Phylogenetic diversity, antibiotic resistance and virulence traits of *Aeromonas* spp. from untreated waters for human consumption. *International journal of food microbiology*, 159(3), 230-239.
 13. Castro, L., Vera, M., Muñoz, J. Á., Blázquez, M. L., González, F., Sand, W., & Ballester, A. (2014). *Aeromonas hydrophila* produces conductive nanowires. *Research in microbiology*, 165(9), 794–802. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2014.09.005>
 14. Castro-Escarpulli, G. (2014). Re-identification of *Aeromonas* isolates from rainbow trout and incidence of class 1 integron and b-lactamase genes.
 15. Cattoir, V., Poirel, L., Aubert, C., Soussy, C. J., & Nordmann, P. (2008). Unexpected occurrence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants in environmental *Aeromonas* spp. *Emerging infectious diseases*, 14(2), 231.
 16. Chen, J., Wu, H. Q., Niu, H., Shi, Y. H., & Li, M. Y. (2009). Increased liver protein and mRNA expression of natural killer cell-enhancing factor B (NKEF-B) in ayu (*Plecoglossus altivelis*) after *Aeromonas hydrophila* infection. *Fish & Shellfish Immunology*, 26(3), 567-571.
 17. Dahanayake, P. S., Hossain, S., Wickramanayake, M. V. K. S., & Heo, G. J. (2019). Antibiotic and heavy metal resistance genes in *Aeromonas* spp. isolated from

- marketed Manila Clam (*Ruditapes philippinarum*) in Korea. *Journal of applied microbiology*, 127(3), 941-952.
18. Dallaire-Dufresne, S., Tanaka, K. H., Trudel, M. V., Lafaille, A., & Charette, S. J. (2014). Virulence, genomic features, and plasticity of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*, the causative agent of fish furunculosis. *Veterinary microbiology*, 169(1-2), 1-7.
 19. Daury, L., Orange, F., Taveau, J. C., Verchere, A., Monlezun, L., Gounou, C., ... & Lambert, O. (2016). Tripartite assembly of RND multidrug efflux pumps. *Nature communications*, 7(1), 1-8.
 20. Del Castillo, C. S., Hikima, J. I., Jang, H. B., Nho, S. W., Jung, T. S., Wongtavatchai, J., ... & Aoki, T. (2013). Comparative sequence analysis of a multidrug-resistant plasmid from *Aeromonas hydrophila*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 57(1), 120-129.
 21. Deng, Y., Wu, Y., Jiang, L., Tan, A., Zhang, R., & Luo, L. (2016). Multi-drug resistance mediated by class 1 integrons in *Aeromonas* isolated from farmed freshwater animals. *Frontiers in microbiology*, 7, 935.
 22. Dhanapala, P. M., Kalupahana, R. S., Kalupahana, A. W., Wijesekera, D. P. H., Kottawatta, S. A., Jayasekera, N. K., ... & Jagoda, S. D. S. (2021). Characterization and Antimicrobial Resistance of Environmental and Clinical *Aeromonas* Species Isolated from Fresh Water Ornamental Fish and Associated Farming Environment in Sri Lanka. *Microorganisms*, 9(10), 2106.
 23. Didugu, H., Thirtham, M., Nelapati, K., Reddy, K. K., Kumbhar, B. S., Poluru, A., & Pothanaboyina, G. (2015). A study on the prevalence of *Aeromonas* spp. and its enterotoxin genes in samples of well water, tap water, and bottled water. *Veterinary World*, 8(10), 1237.
 24. Dong, J., Zhang, L., Liu, Y., Xu, N., Zhou, S., Yang, Q., ... & Ai, X. (2020). Thymol protects channel catfish from *Aeromonas hydrophila* infection by inhibiting aerolysin expression and biofilm formation. *Microorganisms*, 8(5), 636.
 25. Dong, Y., Li, Q., Geng, J., Cao, Q., Zhao, D., Jiang, M., ... & Liu, Y. (2021). The TonB system in *Aeromonas hydrophila* NJ-35 is essential for MacA 2 B 2 efflux pump-mediated macrolide resistance. *Veterinary research*, 52(1), 1-10.

26. Du, X., Bayliss, S. C., Feil, E. J., Liu, Y., Wang, C., Zhang, G., ... & Feng, J. (2019). Real time monitoring of *Aeromonas salmonicida* evolution in response to successive antibiotic therapies in a commercial fish farm. *Environmental microbiology*, 21(3), 1113-1123.
27. Esteve, C., Alcaide, E., & Giménez, M. J. (2015). Multidrug-resistant (MDR) *Aeromonas* recovered from the metropolitan area of Valencia (Spain): diseases spectrum and prevalence in the environment. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 34(1), 137-145.
28. Fernández-Bravo, A., & Figueras, M. J. (2020). An update on the genus *Aeromonas*: Taxonomy, epidemiology, and pathogenicity. *Microorganisms*, 8(1), 129.
29. Figueira, V., Vaz-Moreira, I., Silva, M., & Manaia, C. M. (2011). Diversity and antibiotic resistance of *Aeromonas* spp. in drinking and waste water treatment plants. *Water research*, 45(17), 5599-5611.
30. Fosse, T., Giraud-Morin, C., & Madinier, I. (2003). Phénotypes de résistance aux β -lactamines dans le genre *Aeromonas*. *Pathologie Biologie*, 51(5), 290-296.
31. Fricke, W. F., Welch, T. J., McDermott, P. F., Mammel, M. K., LeClerc, J. E., White, D. G., ... & Ravel, J. (2009). Comparative genomics of the IncA/C multidrug resistance plasmid family. *Journal of Bacteriology*, 191(15), 4750-4757.
32. Galán, J. C., González-Candelas, F., Rolain, J. M., & Cantón, R. (2013). Antibiotics as selectors and accelerators of diversity in the mechanisms of resistance: from the resistome to genetic plasticity in the β -lactamases world. *Frontiers in microbiology*, 4.
33. Gonçalves Pessoa, R. B. G., de Oliveira, W. F., Marques, D. S. C., dos Santos Correia, M. T., de Carvalho, E. V. M. M., & Coelho, L. C. B. B. (2019). The genus *Aeromonas*: A general approach. *Microbial pathogenesis*, 130, 81-94.
34. Goñi-Urriza, M., Arpin, C., Capdepuy, M., Dubois, V., Caumette, P., & Quentin, C. (2002). Type II topoisomerase quinolone resistance-determining regions of *Aeromonas caviae*, *A. hydrophila*, and *A. sobria* complexes and mutations associated with quinolone resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46(2), 350-359.
35. Gordon, L., Cloeckert, A., Doublet, B., Schwarz, S., Bouju-Albert, A., Ganiere, J. P., ... & Giraud, E. (2008). Complete sequence of the floR-carrying multiresistance

- plasmid pAB5S9 from freshwater *Aeromonas bestiarum*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 62(1), 65-71.
36. Grilo, M. L., Pereira, A., Sousa-Santos, C., Robalo, J. I., & Oliveira, M. (2021). Climatic Alterations Influence Bacterial Growth, Biofilm Production and Antimicrobial Resistance Profiles in *Aeromonas* spp. *Antibiotics*, 10(8), 1008.
 37. Hadi, N., Yang, Q., Barnett, T. C., Tabei, S. M. B., Kirov, S. M., & Shaw, J. G. (2012). Bundle-forming pilus locus of *Aeromonas veronii* bv. Sobria. *Infection and immunity*, 80(4), 1351-1360.
 38. Hayatgheib, N., Calvez, S., Fournel, C., Pineau, L., Pouliquen, H., & Moreau, E. (2021). Antimicrobial susceptibility profiles and resistance genes in genus *Aeromonas* spp. isolated from the environment and rainbow trout of two fish farms in France. *Microorganisms*, 9(6), 1201.
 39. Hernould, M., Gagné, S., Fournier, M., Quentin, C., & Arpin, C. (2008). Role of the AheABC efflux pump in *Aeromonas hydrophila* intrinsic multidrug resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 52(4), 1559-1563.
 40. Hossain, S., De Silva, B. C. J., Dahanayake, P. S., & Heo, G. J. (2018). Characterization of virulence properties and multi-drug resistance profiles in motile *Aeromonas* spp. isolated from zebrafish (*Danio rerio*). *Letters in applied microbiology*, 67(6), 598-605.
 41. Hu, M., Wang, N., Pan, Z. H., Lu, C. P., & Liu, Y. J. (2012). Identity and virulence properties of *Aeromonas* isolates from diseased fish, healthy controls and water environment in China. *Letters in Applied Microbiology*, 55(3), 224-233.
 42. Huddleston, J. R. (2014). Horizontal gene transfer in the human gastrointestinal tract: potential spread of antibiotic resistance genes. *Infection and drug resistance*, 7, 167.
 43. Hughes, H. Y., Conlan, S. P., Lau, A. F., Dekker, J. P., Michelin, A. V., Youn, J. H., ... & Palmore, T. N. (2016). Detection and whole-genome sequencing of carbapenemase-producing *Aeromonas hydrophila* isolates from routine perirectal surveillance culture. *Journal of clinical microbiology*, 54(4), 1167-1170.
 44. Igbinosa, I. H., Igbinosa, E. O., & Okoh, A. I. (2015). Detection of antibiotic resistance, virulence gene determinants and biofilm formation in *Aeromonas* species

- isolated from cattle. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(22), 17596-17605.
45. Jacoby, G. A., & Hooper, D. C. (2013). Phylogenetic analysis of chromosomally determined qnr and related proteins. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 57(4), 1930-1934.
 46. Jagoda, S. D. S., Honein, K., Arulkanthan, A., Ushio, H., & Asakawa, S. (2017). Genome sequencing and annotation of *Aeromonas veronii* strain Ae52, a multidrug-resistant isolate from septicemic gold fish (*Carassius auratus*) in Sri Lanka. *Genomics Data*, 11, 46-48.
 47. Jahid, IK, Lee, NY, Kim, A. y Ha, SD (2013). Influencia de las concentraciones de glucosa en la formación de biopelículas, motilidad, producción de exoproteasas y detección de quórum en *Aeromonas hydrophila*. *Diario de Protección de Alimentos*, 76 (2), 239-247.
 48. Jin, L., Chen, Y., Yang, W., Qiao, Z., & Zhang, X. (2020). Complete genome sequence of fish-pathogenic *Aeromonas hydrophila* HX-3 and a comparative analysis: insights into virulence factors and quorum sensing. *Scientific reports*, 10(1), 1-15.
 49. John, N., Vidyalakshmi, V. B., & Hatha, A. M. (2019). Effect of pH and salinity on the production of extracellular virulence factors by *Aeromonas* from food sources. *Journal of food science*, 84(8), 2250-2255.
 50. Jutfelt, F., Sundh, H., Glette, J., Mellander, L., Thrandur Björnsson, B., & Sundell, K. (2008). The involvement of *Aeromonas salmonicida* virulence factors in bacterial translocation across the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), intestine. *Journal of fish diseases*, 31(2), 141-151.
 51. Kersters, I., Huys, G., Van Duffel, H., Vancanneyt, M., Kersters, K., & Verstraete, W. (1996). Survival potential of *Aeromonas hydrophila* in freshwaters and nutrient-poor waters in comparison with other bacteria. *Journal of Applied Bacteriology*, 80(3), 266-276.
 52. Kirke, D. F., Swift, S., Lynch, M. J., & Williams, P. (2004). The *Aeromonas hydrophila* LuxR homologue AhyR regulates the N-acyl homoserine lactone synthase, Ahyl positively and negatively in a growth phase-dependent manner. *FEMS microbiology letters*, 241(1), 109-117.

53. Kozlova, E. V., Khajanchi, B. K., Popov, V. L., Wen, J., & Chopra, A. K. (2012). Impact of QseBC system in c-di-GMP-dependent quorum sensing regulatory network in a clinical isolate SSU of *Aeromonas hydrophila*. *Microbial pathogenesis*, 53(3-4), 115-124.
54. Laviad, S., & Halpern, M. (2016). Chironomids' relationship with *Aeromonas* species. *Frontiers in microbiology*, 7, 736.
55. Lee, H. J., Hoel, S., Lunestad, B. T., Lerfall, J., & Jakobsen, A. N. (2021). *Aeromonas* spp. isolated from ready-to-eat seafood on the Norwegian market: prevalence, putative virulence factors and antimicrobial resistance. *Journal of Applied Microbiology*, 130(4), 1380-1393.
56. Li, W., Ali, F., Cai, Q., Yao, Z., Sun, L., Lin, W., & Lin, X. (2018). Quantitative proteomic analysis reveals that chemotaxis is involved in chlortetracycline resistance of *Aeromonas hydrophila*. *Journal of proteomics*, 172, 143-151.
57. Li, X. Z., Plésiat, P., & Nikaido, H. (2015). The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *Clinical microbiology reviews*, 28(2), 337-418.
58. Lin, X., Lu, J., Qian, C., Lin, H., Li, Q., Zhang, X., ... & Lin, L. (2021). Molecular and Functional Characterization of a Novel Plasmid-Borne blaNDM-Like Gene, blaAFM-1, in a Clinical Strain of *Aeromonas hydrophila*. *Infection and Drug Resistance*, 14, 1613.
59. Lo, C. C., Liao, W. Y., Chou, M. C., Wu, Y. Y., Yeh, T. H., & Lo, H. R. (2022). Overexpression of Resistance-Nodulation-Division Efflux Pump Genes Contributes to Multidrug Resistance in *Aeromonas hydrophila* Clinical Isolates. *Microbial Drug Resistance*, 28(2), 153-160.
60. Lowry, R., Balboa, S., Parker, J. L., & Shaw, J. G. (2014). *Aeromonas* flagella and colonisation mechanisms. *Advances in microbial physiology*, 65, 203-256.
61. MacFadden, D. R., McGough, S. F., Fisman, D., Santillana, M., & Brownstein, J. S. (2018). Antibiotic resistance increases with local temperature. *Nature Climate Change*, 8(6), 510-514.

62. Maltz, M., Leverage, B. L., & Graf, J. (2015). Identification of iron and heme utilization genes in *Aeromonas* and their role in the colonization of the leech digestive tract. *Frontiers in Microbiology*, 6, 763.
63. Marinho-Neto, F. A., Claudiano, G. S., Yunis-Aguinaga, J., Cueva-Quiroz, V. A., Kobashigawa, K. K., Cruz, N. R., ... & Moraes, J. R. (2019). Morphological, microbiological and ultrastructural aspects of sepsis by *Aeromonas hydrophila* in *Piaractus mesopotamicus*. *PloS one*, 14(9), e0222626.
64. Massicotte, M. A., Vincent, A. T., Schneider, A., Paquet, V. E., Frenette, M., & Charette, S. J. (2019). One *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* isolate with a pAsa5 variant bearing antibiotic resistance and a pRAS3 variant making a link with a swine pathogen. *Science of the Total Environment*, 690, 313-320.
65. Mendoza-Barberá, E., Merino, S., & Tomás, J. (2021). Surface Glucan Structures in *Aeromonas* spp. *Marine Drugs*, 19(11), 649.
66. Meng, L., Du, Y., Liu, P., Li, X., & Liu, Y. (2017). Involvement of LuxS in *Aeromonas salmonicida* metabolism, virulence and infection in Atlantic salmon (*Salmo salar* L). *Fish & Shellfish Immunology*, 64, 260-269.
67. Merino, S., Shaw, J. G., & Tomás, J. M. (2006). Bacterial lateral flagella: an inducible flagella system. *FEMS microbiology letters*, 263(2), 127-135.
68. Nwaiwu, O., & Aduba, C. C. (2020). An in silico analysis of acquired antimicrobial resistance genes in *Aeromonas* plasmids. *AIMS microbiology*, 6(1), 75.
69. OMS (2005). *Manual de Bioseguridad en Laboratorios*. 3era Edición
70. Origi, F. C., Benedicenti, O., Segner, H., Sattler, U., Wahli, T., & Frey, J. (2017). *Aeromonas salmonicida* type III secretion system-effectors-mediated immune suppression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & shellfish immunology*, 60, 334-345.
71. Otero-Olarra, J. E., Curiel-Quesada, E., Baltazar-Cruz, J., Aguilera-Arreola, M. G., & Pérez-Valdespino, A. (2020). Low cassette variability in class 2 and class 1 integrons of *Aeromonas* spp. isolated from environmental samples. *Microbial Drug Resistance*, 26(7), 794-801.

72. Park, S. Y., Choi, S. Y., & Ha, S. D. (2019). Predictive modeling for the growth of *Aeromonas hydrophila* on lettuce as a function of combined storage temperature and relative humidity. *Foodborne pathogens and disease*, 16(6), 376-383.
73. Park, S. Y., Han, J. E., Kwon, H., Park, S. C., & Kim, J. H. (2020). Recent insights into *Aeromonas salmonicida* and its bacteriophages in aquaculture: A comprehensive review.
74. Pattanayak, S., Priyadarsini, S., Paul, A., Kumar, P. R., & Sahoo, P. K. (2020). Diversity of virulence-associated genes in pathogenic *Aeromonas hydrophila* isolates and their in vivo modulation at varied water temperatures. *Microbial Pathogenesis*, 147, 104424.
75. Penders, J., & Stobberingh, E. E. (2008). Antibiotic resistance of motile aeromonads in indoor catfish and eel farms in the southern part of The Netherlands. *International journal of antimicrobial agents*, 31(3), 261-265.
76. Pepi, M., & Focardi, S. (2021). Antibiotic-resistant bacteria in aquaculture and climate change: A challenge for health in the mediterranean area. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(11), 5723.
77. Pessoa, R. B. G., de Oliveira, W. F., dos Santos Correia, M. T., Fontes, A., & Coelho, L. C. B. B. (2022). *Aeromonas* and Human Health Disorders: Clinical Approaches. *Frontiers in Microbiology*, 13.
78. Pfeiffer, F., Zamora-Lagos, M. A., Blettinger, M., Yeroslaviz, A., Dahl, A., Gruber, S., & Habermann, B. H. (2018). The complete and fully assembled genome sequence of *Aeromonas salmonicida* subsp. *pectinolytica* and its comparative analysis with other *Aeromonas* species: investigation of the mobilome in environmental and pathogenic strains. *BMC genomics*, 19(1), 1-15.
79. Piotrowska, M., & Popowska, M. (2015). Insight into the mobilome of *Aeromonas* strains. *Frontiers in microbiology*, 6, 494.
80. Prediger, K. D. C., Dallagassa, C. B., Moriel, B., Vizzotto, B. S., Volanski, W., Souza, E. M., ... & Fadel-Picheth, C. M. (2020). Virulence characteristics and antimicrobial resistance of *Aeromonas veronii* biovar *sobria* 312M, a clinical isolate. *Brazilian Journal of Microbiology*, 51(2), 511-518.

81. Puah, S. M., Puthucheary, S. D., Liew, F. Y., & Chua, K. H. (2013). *Aeromonas aquariorum* clinical isolates: antimicrobial profiles, plasmids and genetic determinants. *International journal of antimicrobial agents*, 41(3), 281-284.
82. Ran, C., Qin, C., Xie, M., Zhang, J., Li, J., Xie, Y., ... & Lin, Q. (2018). *Aeromonas veronii* and aerolysin are important for the pathogenesis of motile aeromonad septicemia in cyprinid fish. *Environmental microbiology*, 20(9), 3442-3456.
83. Ranjbar, R., Salighehzadeh, R., & Sharifiyazdi, H. (2019). Antimicrobial resistance and incidence of integrons in *Aeromonas* Species isolated from diseased freshwater animals and water samples in Iran. *Antibiotics*, 8(4), 198.
84. Rasmussen-Ivey, C. R., Figueras, M. J., McGarey, D., & Liles, M. R. (2016). Virulence factors of *Aeromonas hydrophila*: in the wake of reclassification. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1337.
85. Romero, A., Saraceni, P. R., Merino, S., Figueras, A., Tomás, J. M., & Novoa, B. (2016). The animal model determines the results of *Aeromonas* virulence factors. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1574.
86. Saraceni, P. R., Romero, A., Figueras, A., & Novoa, B. (2016). Establishment of infection models in zebrafish larvae (*Danio rerio*) to study the pathogenesis of *Aeromonas hydrophila*. *Frontiers in microbiology*, 7, 1219.
87. Schuetz, A. N. (2019, May). Emerging agents of gastroenteritis: *Aeromonas*, *Plesiomonas*, and the diarrheagenic pathotypes of *Escherichia coli*. In *Seminars in Diagnostic Pathology* (Vol. 36, No. 3, pp. 187-192). WB Saunders.
88. Seukep, A. J., Kuete, V., Nahar, L., Sarker, S. D., & Guo, M. (2020). Plant-derived secondary metabolites as the main source of efflux pump inhibitors and methods for identification. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 10(4), 277-290.
89. Sha, J., Erova, T. E., Alyea, R. A., Wang, S., Olano, J. P., Pancholi, V., & Chopra, A. K. (2009). Surface-expressed enolase contributes to the pathogenesis of clinical isolate SSU of *Aeromonas hydrophila*. *Journal of bacteriology*, 191(9), 3095-3107.
90. Shi, Y., Tian, Z., Gillings, M. R., Zhang, Y., Zhang, H., Huyan, J., & Yang, M. (2020). Novel transposon Tn 6433 variants accelerate the dissemination of tet (E) in *Aeromonas* in anaerobic biofilm reactor under oxytetracycline stresses. *Environmental Science & Technology*, 54(11), 6781-6791.

91. Shuang, M. E. N. G., Wang, Y. L., LIU, C. G., Jing, Y. A. N. G., Min, Y. U. A. N., Bai, X. N., ... & Juan, L. I. (2020). Genetic diversity, antimicrobial resistance, and virulence genes of *Aeromonas* isolates from clinical patients, tap water systems, and food. *Biomedical and Environmental Sciences*, 33(6), 385-395.
92. Sidhu, J. P. S., Gupta, V. V. S. R., Stange, C., Ho, J., Harris, N., Barry, K., ... & Toze, S. (2020). Prevalence of antibiotic resistance and virulence genes in the biofilms from an aquifer recharged with stormwater. *Water Research*, 185, 116269.
93. Stratev, D., Vashin, I., & Rusev, V. (2012). Prevalence and survival of *Aeromonas* spp. in foods—a review. *Rev. Med. Vet*, 163(10), 486-494.
94. Strozen, T. G., Stanley, H., Gu, Y., Boyd, J., Bagdasarian, M., Sandkvist, M., & Howard, S. P. (2011). Involvement of the GspAB complex in assembly of the type II secretion system secretin of *Aeromonas* and *Vibrio* species. *Journal of bacteriology*, 193(9), 2322-2331.
95. Sun, Q., Wang, J., Wang, G., Wang, H., & Liu, H. (2021). Integrated analysis of lncRNA and mRNA in liver of *Megalobrama amblycephala* post *Aeromonas hydrophila* infection. *BMC genomics*, 22(1), 1-15.
96. Syrova, E., Kohoutova, L., Dolejska, M., Papezikova, I., Kutilova, I., Cizek, A., ... & Palikova, M. (2018). Antibiotic resistance and virulence factors in mesophilic *Aeromonas* spp. from Czech carp fisheries. *Journal of applied microbiology*, 125(6), 1702-1713.
97. Takahashi, A., Nakano, M., Okamoto, K., Fujii, Y., Mawatari, K., Harada, N., & Nakaya, Y. (2006). *Aeromonas sobria* hemolysin causes diarrhea by increasing secretion of HCO₃⁻. *FEMS microbiology letters*, 258(1), 92-95.
98. Talagrand-Reboul, E., Jumas-Bilak, E., & Lamy, B. (2017). The social life of *Aeromonas* through biofilm and quorum sensing systems. *Frontiers in microbiology*, 8, 37.
99. Tewari, R., Dudeja, M., Nandy, S., & Das, A. K. (2014). Isolation of *Aeromonas salmonicida* from human blood sample: a case report. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 8(2), 139.
100. Tomás, J. M. (2012). The main *Aeromonas* pathogenic factors. *ISRN microbiology*, 2012.

101. Trudel, M. V., Vincent, A. T., Att  r  , S. A., Labb  , M., Derome, N., Culley, A. I., & Charette, S. J. (2016). Diversity of antibiotic-resistance genes in Canadian isolates of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*: dominance of pSN254b and discovery of pAsa8. *Scientific reports*, 6(1), 1-10.
102. Uechi, K., Tada, T., Sawachi, Y., Hishinuma, T., Takaesu, R., Nakama, M., ... & Fujita, J. (2018). A carbapenem-resistant clinical isolate of *Aeromonas hydrophila* in Japan harbouring an acquired gene encoding GES-24 β -lactamase. *Journal of Medical Microbiology*, 67(11), 1535-1537.
103. Vincent, A. T., Paquet, V. E., Bernatchez, A., Tremblay, D. M., Moineau, S., & Charette, S. J. (2017). Characterization and diversity of phages infecting *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*. *Scientific reports*, 7(1), 1-10.
104. Vincent, A. T., Trudel, M. V., Paquet, V. E., Boyle, B., Tanaka, K. H., Dallaire-Dufresne, S., ... & Charette, S. J. (2014). Detection of variants of the pRAS3, pAB5S9, and pSN254 plasmids in *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*: multidrug resistance, interspecies exchanges, and plasmid reshaping. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 58(12), 7367-7374.
105. Wang, D., Li, H., Ma, X., Tang, Y., Tang, H., Huang, D., ... & Liu, Z. (2021). Hfq Regulates Efflux Pump Expression and Purine Metabolic Pathway to Increase Trimethoprim Resistance in *Aeromonas veronii*. *Frontiers in microbiology*, 12.
106. Wang, J., Yang, B., Wang, W., Song, X., Jiang, Q., Qiu, L., ... & Song, L. (2019). The enhanced immune protection in Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* against the second exposure to bacteria *Aeromonas hydrophila*. *Frontiers in immunology*, 10, 2041.
107. Worthing, K. A., Norris, J. M., & Briscoe, K. A. (2019). Severe acute cellulitis and sepsis caused by *Aeromonas* spp. in a dog on immunosuppressive therapy. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 29(4), 444-449.
108. Yu, J., Ramanathan, S., Chen, L., Zeng, F., Li, X., Zhao, Y., ... & Pang, H. (2021). Comparative transcriptomic analysis reveals the molecular mechanisms related to oxytetracycline-resistance in strains of *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture Reports*, 21, 100812.

109. Zdanowicz, M., Mudryk, Z. J., & Perliński, P. (2020). Abundance and antibiotic resistance of *Aeromonas* isolated from the water of three carp ponds. *Veterinary Research Communications*, 44(1), 9-18.
110. Zhong, C., Han, M., Yang, P., Chen, C., Yu, H., Wang, L., & Ning, K. (2019). Comprehensive analysis reveals the evolution and pathogenicity of *Aeromonas*, viewed from both single isolated species and microbial communities. *Msystems*, 4(5).
111. Zhou, Y., Yu, L., Nan, Z., Zhang, P., Kan, B., Yan, D., & Su, J. (2019). Taxonomy, virulence genes and antimicrobial resistance of *Aeromonas* isolated from extra-intestinal and intestinal infections. *BMC infectious diseases*, 19(1), 158.
112. Zhu, W., Zhou, S., & Chu, W. (2020). Comparative proteomic analysis of sensitive and multi-drug resistant *Aeromonas hydrophila* isolated from diseased fish. *Microbial pathogenesis*, 139, 103930.