



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

“Análisis *in silico* de los genes implicados en la virulencia de bacterias patógenas oportunistas aisladas de agua para consumo humano”

**Tesis que para obtener el título de
LICENCIADA EN BIOLOGÍA**

PRESENTA:

ALVARADO GÓMEZ BRENDA ARACELI

**DIRECTORA DE TESIS:
D.C LORENA MILFORES FLORES**

**CO-DIRECTORA DE TESIS:
D.C DALIA MOLINA ROMERO**



ABRIL 2021

AGRADECIMIENTOS

A mi asesora de Tesis la Dra. Lorena Milflores, gracias por la oportunidad y la confianza que me brindó desde el inicio de trabajar en su laboratorio, así como por la flexibilidad y comprensión respecto a los tiempos de estadía en el laboratorio.

A mi co-asesora de Tesis la Dra. Dalia Molina, gracias por la oportunidad, el apoyo y la enseñanza brindada en todo este proceso.

A pesar de las circunstancias relacionadas con la pandemia y de que no tuve la oportunidad de trabajar en el laboratorio de manera experimental, me pude dar cuenta que ambas, forman un excelente equipo, mismo que se ve reflejado en el apoyo que me brindaron para poder realizar esta tesis; y además junto con los compañeros que tuve la oportunidad de conocer en su momento, brindan el espacio ideal para hacer, lo que en sus diferentes niveles de aprendizaje todos amamos hacer, CIENCIA.

En otras circunstancias me hubiera gustado poder trabajar con ustedes de manera presencial y experimental en el laboratorio, sin embargo agradezco infinitamente las reuniones virtuales que pudimos concertar para realizar esta Tesis y ayudarme a cumplir mi más grande meta, ser Bióloga.

ÍNDICE

RESUMEN.....	8
I. INTRODUCCIÓN.....	9
1.1 Descripción del género <i>Pseudomonas</i>	9
1.2 Hábitat.....	12
1.3 Características metabólicas.....	13
1.4 Patogenicidad.....	14
1.4.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15
1.4.2 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	22
1.4.3 <i>Pseudomonas alcaligenes</i>	24
1.4.4 <i>Pseudomonas poae</i>	24
1.4.5 <i>Pseudomonas salomonii</i>	25
1.5 Descripción del género <i>Aeromonas</i>	26
1.6 Hábitat.....	27
1.7 Características metabólicas.....	28
1.8 Patogenicidad.....	29
1.8.1 <i>Aeromonas hydrophila</i>	35
1.8.2 <i>Aeromonas caviae</i>	37
1.8.3 <i>Aeromonas veronii</i>	39
II. ANTECEDENTES.....	42
2.1 Quorum sensing.....	44
2.2 Biopelícula.....	49
2.3 Resistencia a antibióticos.....	56
III. JUSTIFICACIÓN.....	62
IV. HIPÓTESIS.....	63
V. OBJETIVOS.....	63
5.1 Objetivo general.....	63
5.2 Objetivos particulares.....	63
VI. MATERIAL Y MÉTODOS.....	64
VII. RESULTADOS.....	73
VIII. DISCUSIÓN.....	82
IX. CONCLUSIONES.....	88
X. BIBLIOGRAFÍA.....	89

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismos de virulencia empleados durante la infección por <i>P. aeruginosa</i>.....	18
Figura 2. Señalización del quorum sensing en bacterias gram-negativas y su rol en la regulación de factores de virulencia.....	46
Figura 3. Representación esquemática del sistema de QS AI-2 en <i>Aeromonas</i>.....	48
Figura 4. Representación esquemática del sistema de QS AI-3 en <i>Aeromonas</i>.....	49
Figura 5. Etapas de la formación de biopelícula y sus elementos funcionales.....	51
Figura 6. Mecanismo general de quorum sensing en la formación de biopelícula.....	52
Figura 7. Esquema de la porina OprD en la membrana externa de <i>P. aeruginosa</i>.....	60

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Homologías de rRNA entre grupos de <i>Pseudomonas</i>	10
Tabla 2. Genes de biogénesis del pili y flagelo en <i>P. aeruginosa</i> PAO1.....	19
Tabla 3. Genes de biosíntesis de LPS en <i>P. aeruginosa</i> PAO1.....	21
Tabla 4. Factores de virulencia caracterizados en <i>P. fluorescens</i>	23
Tabla 5. Factores de virulencia caracterizados en <i>A. hydrophila</i>	36
Tabla 6. Factores de virulencia caracterizados en <i>A. caviae</i>	39
Tabla 7. Factores de virulencia caracterizados en <i>A. veronii</i>	40
Tabla 8. Factores de virulencia regulados por el sistema de quorum sensing en <i>P. aeruginosa</i>	47
Tabla 9. Descripción de los genes de <i>P. aeruginosa</i> PAO1 empleados como control.....	65
Tabla 10. Secuencias de nucleótidos y aminoácidos de <i>P. aeruginosa</i> PAO1.....	66
Tabla 11. Factores de virulencia caracterizados en <i>P. fluorescens</i>	73
Tabla 12. Factores de virulencia caracterizados en <i>P. alcaligenes</i>	74
Tabla 13. Proteínas de virulencia descritas en <i>P. poae</i> por el método de homología de proteínas del NCBI.....	74
Tabla 14. Análisis tipo BLAST de NCBI de la secuencia de nucleótidos de los genes <i>lasR</i> , <i>peIA</i> , <i>psIA</i> y <i>oprD</i> en especies del género <i>Pseudomonas</i> y <i>Aeromonas</i>	77
Tabla 15. Análisis tipo BLAST de NCBI de la secuencia de aminoácidos de los genes <i>lasR</i> , <i>peIA</i> , <i>psIA</i> y <i>oprD</i> en especies del género <i>Pseudomonas</i> y <i>Aeromonas</i>	77
Tabla 16. Análisis tipo BLAST de UniProt de la secuencia de nucleótidos de los genes <i>lasR</i> , <i>peIA</i> , <i>psIA</i> y <i>oprD</i> en especies del género <i>Pseudomonas</i> y <i>Aeromonas</i>	78

Tabla 17. Análisis tipo BLAST de UniProt de la secuencia de aminoácidos de los genes *lasR*, *pelA*, *pslA* y *oprD* en especies del género *Pseudomonas* y *Aeromonas*.....78

Tabla 18. Análisis tipo BLAST de las secuencias de aminoácidos de 11 genes del operón *psl* de *P. aeruginosa* PAO1 en especies de *Pseudomonas* y *Aeromonas*.....80

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

- ADNe:** Ácido desoxirribonucleico extracelular
- AHLs:** Acil homoserina lactonas
- ATP:** Adenosín trifosfato
- BLAST:** Basic Local Alignment Search Tool
- c-di-GMP:** Diguanilato cíclico
- EPS:** Exopolisacáridos
- GABA:** Ácido gamma aminobutírico
- GDP:** Guanosín difosfato
- GlcNAc:** N-acetilglucosamina
- GT:** Glicosiltransferasa
- LPS:** Lipopolisacáridos
- MBL:** Metalo- β -lactamasa
- NaCl:** Cloruro de sodio
- NCBI:** National Center for Biotechnology Information
- ORF:** Open reading frame (marco de lectura abierta)
- QS:** Quorum sensing
- rRNA:** Ácido ribonucleico ribosomal
- SST:** Sistema de secreción tipo
- UDP-Glc:** Uridina difosfato glucosa
- VE:** Vesículas extramembrana

RESUMEN

Algunas especies de los géneros *Pseudomonas* y *Aeromonas* son consideradas de gran importancia médica debido a las enfermedades que ocasionan en humanos. Son bacterias patógenas oportunistas frecuentemente relacionadas con infecciones nosocomiales especialmente en individuos inmunocomprometidos. Las bacterias patógenas han desarrollado sofisticados mecanismos de virulencia que dificultan el tratamiento y conducen a la progresión de las infecciones agudas a crónicas, o incluso a la muerte. Entre los factores de virulencia empleados por las bacterias patógenas oportunistas, se encuentra el quorum sensing, la formación de biopelícula y la resistencia a antibióticos, que han adquirido relevancia para su estudio, entendimiento y desarrollo de nuevas terapias. El quorum sensing es la comunicación celular que regula la mayoría de los genes implicados en los mecanismos de virulencia que estas bacterias emplean, como la biopelícula; una matriz de exopolisacáridos que ofrece protección a las bacterias ante cualquier tipo de estrés ambiental y sustancias tóxicas como antimicrobiales, antibióticos e incluso la respuesta inmunológica del hospedero; además actúa como reservorio de agentes infecciosos y metabolitos secundarios que contribuyen a la progresión y persistencia de las enfermedades. Por otra parte la resistencia a antibióticos ha adquirido importancia a nivel sanitario debido a que el uso excesivo e indiscriminado de antibióticos ha conducido al surgimiento y dispersión de bacterias resistentes a estos, volviendo más difícil el tratamiento de las infecciones bacterianas; esta situación contribuye a grandes pérdidas económicas, tiene una gran implicación medioambiental y es un problema de salud pública que favorece aún más la aparición de estas cepas resistentes.

El objetivo de este trabajo fue identificar *in silico* algunos genes y marcos de lectura abierta implicados en la virulencia de las especies *P. fluorescens*, *P. alcaligenes*, *P. poae*, *P. salomonii*, *A. hydrophila*, *A. caviae* y *A. veronii*; marcos de lectura abierta y genes que codifican proteínas homólogas a las que controlan el quorum sensing, la formación de biopelícula y la resistencia a antibióticos, así como analizar *in silico* la presencia del operón *psl* empleando los genes de *P. aeruginosa* como control, mediante el uso de herramientas bioinformáticas como las bases de datos internacionales de genes y el algoritmo de alineamiento de secuencias BLAST.

De la búsqueda de genes en las bases de datos se obtuvieron resultados de genes implicados en virulencia no documentados en la literatura para *P. fluorescens*, *P. alcaligenes* y *P. poae*. En el análisis de alineamiento de la secuencia aminoacídica de los genes implicados en virulencia (*lasR*, *pelA*, *pslA*, *oprD*) los porcentajes de identidad en todas las especies fueron variables, siendo *P. fluorescens* y *P. poae* las principales especies en presentar homología de secuencias con los cuatro genes estudiados, además el gen *pslA* fue el principal en presentar homología con todas las especies. Los resultados del análisis con las secuencias de aminoácidos del operón *psl* implicado en la formación de biopelícula, mostraron porcentajes de identidad con proteínas homólogas en tres especies: *P. fluorescens*, *P. poae* y *P. salomonii*; en las tres especies analizadas de *Aeromonas* se obtuvieron porcentajes de identidad con cuatro secuencias aminoacídicas de los genes del operón *psl*.

I. INTRODUCCIÓN

Descripción del género Pseudomonas

Es el género con el más grande número de especies reconocidas, ya que han sido caracterizadas más de 230 (List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature, 2020). Las bacterias del género *Pseudomonas* son bacilos aerobios rectos o ligeramente curvos, gram negativos y no formadores de esporas, miden entre 0.5 -1.0 μm y 1.5- 5.0 μm . Son móviles por medio de uno o varios flagelos polares y bajo ciertas condiciones de crecimiento algunas especies pueden desarrollar un flagelo lateral. El pili o fimbria puede ser producido por algunas especies con diferentes funciones como: contacto célula-célula, fijación a superficies celulares y movilidad tipo contracción del pili tipo IV (twitching motility) (Sokatch y Sokatch, 2012).

La mayoría de las *Pseudomonas* son aerobios obligados y no dependen de la fermentación para su metabolismo (Hossain, 2014), en algunos casos usan el nitrato como alternativa que permite el crecimiento anaerobio. Bajo condiciones limitantes de nitrógeno algunas especies pueden acumular gránulos de β -hidroxibutirato, que al ser examinados bajo microscopio pueden parecer endosporas (Sokatch y Sokatch, 2012)

Los plásmidos son importantes componentes genéticos de *Pseudomonas*, algunos portan genes que actúan como factores de fertilidad, algunos aportan resistencia a varios agentes como a los antibióticos, resistencia a agentes físicos y químicos, resistencia a la propagación de bacteriófagos y resistencia a bacteriocinas, y otros confieren la capacidad de degradar fuentes inusuales de carbono, contribuyendo a la versatilidad nutricional de algunos miembros del género (Palleroni, 2005).

Otras características conferidas por la presencia de los plásmidos son la habilidad de donar cromosomas, susceptibilidad a fagos específicos, inhibición de la producción de bacteriocinas, inhibición de fertilidad y la utilización de compuestos

orgánicos normalmente no utilizados para el crecimiento por especies distintas a las *Pseudomonas* (Palleroni, 2005).

De acuerdo con Palleroni et al., 1973; la taxonomía de *Pseudomonas* estaba comprendida por cinco grupos basado en homología rRNA (ácido ribonucleico ribosomal) (Tabla 1), pero en 1989, De Vos et. al., propusieron que el género *Pseudomonas* estaba limitado a especies relacionadas con *P. aeruginosa* en el grupo I por homología de rRNA (Palleroni et al., 1973) dentro de la subclase gamma de las Proteobacterias. Las especies que comprenden este grupo han sido llamadas “pseudomonas verdaderas” o “pseudomonas fluorescentes” por los pigmentos producidos por especies como *P. fluorescens* y *P. aeruginosa* antes mencionados (Moore et al., 2006).

Tabla 1. Homologías de rRNA entre grupos de *Pseudomonas* (tomado y modificado de Palleroni et al., 1973; Moore et al., 2006).

Grupo	Especies de <i>Pseudomonas</i>
I	<i>P. aeruginosa</i> <i>P. fluorescens A</i> <i>P. fluorescens B</i> <i>P. fluorescens D</i> <i>P. putida A</i> <i>P. putida B</i> <i>P. stutzeri</i> <i>P. mendocina</i> <i>P. pseudoalcaligenes</i>
II	<i>P. cepacia</i> (reclasificada como <i>Burkholderia</i>) <i>P. mendocina</i> (reclasificada como <i>Burkholderia</i>) <i>P. caryophylli</i> <i>P. pickettii</i> (reclasificada como <i>Burkholderia</i> , posteriormente <i>Ralstonia</i>) <i>P. solanacearum</i> (reclasificada como <i>Burkholderia</i> , posteriormente <i>Ralstonia</i>)

III	<i>P. acidovorans</i> (reclasificada como <i>Comamonas</i> , posteriormente <i>Delftia</i>) <i>P. delafieldii</i> <i>P. facilis</i> (reclasificada como <i>Acidivorax</i>) <i>P. palleroni</i> (reclasificada como <i>Hydrogenophaga</i>) <i>P. saccharophila</i>
IV	<i>P. diminuta</i> <i>P. versicularis</i> (reclasificada como <i>Brevundimonas</i>)
V	<i>P. maltophilia</i> (reclasificada como <i>Xanthomonas</i> , posteriormente <i>Stenotrophomonas</i>)

Estudios filogenéticos basados en la secuencia del gen 16S rRNA por (Moore et al., 1996; Anzai et. al., 2000), llevaron a la reclasificación de las especies del género en al menos 25 géneros taxonómicos. Algunas especies fueron transferidas a cuatro géneros existentes en la clase *Alphaproteobacteria*, 12 géneros en la *Betaproteobacteria* y 13 géneros en la clase *Gammaproteobacteria*. Muchos de estos géneros son distantes a los miembros verdaderos del género en el grupo I de homología de rRNA, que constituye el género *Pseudomonas sensu stricto* (García-Valdés y Lalucat, 2016).

Posteriormente, usando las secuencias de los genes *gyrB*, *rpoB* and *rpoD* se diferenciaron claramente dos linajes. El primer linaje está representado por *P. fluorescens* y comprende 6 grupos filogenéticos, cada uno representado por: *P. fluorescens* (56 especies), *P. syringae* (15 especies), *P. putida* (12 especies), *P. anguilliseptica* (8 especies), *P. straminea* (4 especies) y *P. lutea* (3 especies). El primer grupo *P. fluorescens* es el más complejo e incluye 9 subgrupos representados por las especies *P. fluorescens*, *P. gessardi*, *P. fragi*, *P. mandelii*, *P. jessenii*, *P. koreensis*, *P. corrugata*, *P. chlororaphis* y *P. asplenii* (Mulet et al., 2010).

El segundo linaje está representado por *P. aeruginosa* y ha sido dividido en 3 grupos filogenéticos, cada uno representado por: *P. aeruginosa* (15 especies), *P. oleovorans* (6 especies) y *P. stutzeri* (4 especies) (Mulet et al., 2010).

Algunas especies han sido divididas en intraespecíficas por sus características fisiológicas y bioquímicas (biovares), por sus propiedades patogénicas en plantas y animales (patovares) y por sus diferencias genómicas (genomovares) (García-Valdés y Lalucat, 2016; Peix et al., 2017).

Hábitat

Las especies del género *Pseudomonas* se han aislado de diferentes ambientes como suelo, agua, sedimentos, aire, animales, plantas, hongos y algunas especies se han aislado de ambientes extremos como la Antártica, el desierto de Atacama y de agua o suelo contaminados (Peix et al., 2017).

Las *Pseudomonas* son habitantes naturales del suelo y ambientes acuáticos (Silby et al., 2011), pero también son comunes en alimentos frescos por la misma asociación con el agua, el suelo y la vegetación. Comúnmente contaminan huevos, carne, leche, mariscos, vegetales e incluso agua mineral, por lo que se consideran importantes en el deterioro de los alimentos (Dodd, 2014).

Los miembros del linaje *P. aeruginosa* generalmente son encontrados en suelos ribereños asociados a plantas en descomposición, además incluye patógenos oportunistas involucrados en infecciones en pacientes inmunocomprometidos (Jones et al., 2013).

Las bacterias del linaje *P. fluorescens* se encuentran preferentemente en suelo y en asociación con plantas (Loper et al., 2012), algunos miembros están adaptados a la temperatura humana y forman parte de la microbiota de la piel que bajo ciertas condiciones pueden comportarse como patógenos oportunistas (Chapalain et al., 2008). Los miembros del grupo de *P. putida* muestran adaptación a varios nichos ecológicos y se caracterizan por crecer en suelos contaminados con grandes concentraciones de metales pesados y contaminantes orgánicos (Hachicho et al., 2014).

Algunos de los nichos ambientales y funcionales de las *Pseudomonas* incluyen la colonización de superficies bióticas y abióticas en forma de biopelícula, la interacción con plantas ya sea como promotoras del crecimiento vegetal, patógenas o saprofitas, entomopatógenas; además de la colonización en ambientes con contaminantes y colonización de varios tejidos en humanos principalmente inmunocomprometidos como patógenas oportunistas (Scales et al., 2014).

Características metabólicas

Algunas especies de *Pseudomonas* tienen la habilidad de crecer a temperaturas de 4 °C, pero la mayoría crece entre los 28 y 42° C, logrando crecimiento visible dentro de 24 a 48 horas (Wisplinghoff y Seifert, 2017). La mayoría de las especies son oxidasa y catalasa positivas con algunas excepciones como *P. oryzihabitans* y *P. luteola* (Public Health England, 2015); son reductoras de nitrato e hidrolizan gelatina, almidón y lecitina (Sokatch y Sokatch, 2012). Tienen mínimos requerimientos nutricionales y pueden crecer incluso en agua destilada (Hossain, 2014).

Poseen más de 300 sistemas conocidos y putativos de captación de nutrientes, por lo que son capaces de metabolizar un gran número de compuestos orgánicos (Silby et al., 2011), como hidrocarburos, carbohidratos, ácidos alifáticos, aminas, amidas, aminoácidos, compuestos aromáticos y alcoholes (Sokatch y Sokatch, 2012; Moore et al., 2006) e inorgánicos; como productos sintéticos y aceites (Tekoriene, 2008). Pueden además usar una gran variedad de compuestos para energía como ácidos, aminoácidos, lípidos, pectina, péptidos, proteínas y triacilglicerol que son comunes en alimentos de origen animal y vegetal que usualmente contaminan (Hossain, 2014)

Habitan una gran variedad de nichos con potencial de adaptación a condiciones ambientales fluctuantes (Silby et al., 2011) con altas y bajas temperaturas, altas concentraciones de sal y baja disponibilidad de agua, oxígeno y nutrientes (Rivero-Rosas et al., 2019).

Son capaces de crecer en ambientes con fuentes de carbono, nitrógeno y sulfuro y metabolizan un número limitado de azúcares principalmente glucosa, ácido glucurónico y fructosa; asociado a su estilo de vida principalmente si habitan un nicho caracterizado por la limitada presencia de azúcares (Silby et al., 2011).

Además de mostrar un metabolismo altamente versátil, pueden secretar diversos metabolitos secundarios que afectan a otras bacterias y hongos como son 2,4-diacetilfloroglucinol, fenazinas, pirrolnitrina, pioluteorina y lipopéptidos (Groos y Loper, 2009).

Patogenicidad

Algunas *Pseudomonas* causan enfermedades en diversos organismos, las especies económicamente más importantes y mejor estudiadas son *P. aeruginosa*, patógeno oportunista en humanos y *P. syringae* patógeno en plantas.

Los individuos sanos son resistentes a infecciones serias por *Pseudomonas*, sin embargo, los inmunocomprometidos pueden ser infectados por una o más especies de *Pseudomonas* incluyendo: *P. fluorescens*, *P. stutzeri*, *P. putida*, *P. oryzae*, *P. luteola*, *P. alcaligenes* y *P. mendocina*. Algunas de estas tienen la capacidad de crecer en ambientes hostiles como soluciones antisépticas, y pueden ser la causa de pseudobacteremias. Sin embargo, las infecciones pueden ser iatrogénicas asociadas a la administración de soluciones, medicinas y sangre contaminada (Henry y Speert, 2011).

Pseudomonas aeruginosa

Es un organismo ampliamente distribuido y se ha aislado de plantas, frutas, suelo y ambientes acuáticos como ríos, lagos y piscinas. Es un microorganismo flexible y variable, lo que le permite adaptarse a diferentes condiciones de vida (Mielko et al., 2019).

Puede afectar a un amplio rango de huéspedes como plantas, insectos, nematodos, moscas de fruta, peces y mamíferos empleando una gran variedad de factores de virulencia (Panayidou et al., 2020; Silby et al., 2011).

En humanos, es capaz de infectar un amplio rango de sitios y tejidos, causando serias infecciones en pacientes inmunocomprometidos (Lyczak et al., 2000), donde los factores de riesgo para el desarrollo de estas incluyen neutropenia, fibrosis quística, quemaduras severas y la instalación de dispositivos externos (Yayan et al., 2015).

Presenta dos estrategias patogénicas que son paralelas a dos estilos de vida diferentes; las células de vida libre son predominantemente citotóxicas y pueden inducir respuestas inflamatorias agudas, mientras que las comunidades en biopelícula causan infecciones crónicas (Valentini et al., 2018).

Típicamente, *P. aeruginosa* infecta las vías respiratorias, el tracto urinario y causa infecciones en la sangre; es considerada la causa más común de infecciones en lesiones por quemadura, dermatitis de jacuzzi e infecciones del oído externo. Aunado a esto, es el colonizador más frecuente de dispositivos médicos como catéteres, nebulizadores y humidificadores y es uno de los patógenos principales causantes de infecciones nosocomiales como neumonía asociada a ventiladores (American Thoracic Society, 2005), meningoencefalitis y sepsis (Bassetti et al., 2018).

Es la mayor causa de enfermedades respiratorias y pulmonares crónicas, y contribuye a la mortalidad asociada a la fibrosis quística debido a que muestra una

significante capacidad de adaptación, por lo que en este punto de la infección es prácticamente imposible de erradicar (Mielko et al., 2019).

También es un agente frecuente de infecciones urinarias asociadas a catéteres que pueden desarrollarse a pielonefritis (Newman et al., 2017), causante de otitis, osteomielitis, foliculitis y ectima gangrenoso (Yayan et al., 2015), y está asociada a infecciones oculares debido al uso de lentes de contacto (Robertson, 2008).

La transmisión puede ocurrir por dos vías, ya sea autógena en aquellos donde la resistencia a la colonización ha sido perturbada, como una bacteremia secundaria a colonización gastrointestinal o neumonía en individuos que requieren intubación endotraqueal (neumonía asociada a ventilador); las infecciones por vía exógena probablemente ocurren en pacientes con fibrosis quística donde los aislados infecciosos iniciales suelen parecerse a morfotipos ambientales y la propagación se da de paciente en paciente. Otras infecciones adquiridas por vía exógena incluyen las heridas de quemaduras, sepsis, conjuntivitis, otitis externa y osteocondritis (Henry y Speert, 2011).

El Consorcio Internacional de Control de Infecciones Nosocomiales (INICC, 2017) reportó que las infecciones nosocomiales por *P. aeruginosa* se han vuelto un problema médico mundial, y se ha reportado a esta bacteria con la más alta carga de infecciones adquiridas por asistencia sanitaria en unidades de cuidado intensivo en Europa cada año, con cerca de 51,000 casos de infecciones reportadas asociadas a esta especie (European Centre for Disease Prevention and Control, 2017).

La prevalencia de *P. aeruginosa* en entornos sanitarios se debe a que es un acompañante común de pacientes bajo cuidado médico y además pueden sobrevivir en superficies bióticas y abióticas por la resistencia a métodos de desinfección, siendo transmisibles de paciente a paciente (Russotto et al., 2015). Aunado a esto, las infecciones se están volviendo más difíciles de tratar debido a que es naturalmente resistente a antibióticos debido a una membrana altamente permeable,

a una enzima β -lactamasa y un sistema de bombas de expulsión de antimicrobianos (Luján et al., 2018).

Cada año las cepas multirresistentes de *P. aeruginosa* incrementan mundialmente y se han reportado resistentes a casi todas las clases de antibióticos usualmente empleados como penicilina G, aminopenicilina, cefalosporinas de primera y segunda generación, fluoroquinolonas, piperacilina, tazobactam, quinolonas, aminoglucósidos y carbapenémicos (Poole et al., 2011; European Centre for Disease Prevention and Control, 2017; Yayan et al., 2015); por lo que su capacidad de adaptación, diseminación, resistencia intrínseca a antimicrobianos y la capacidad de adquirir nuevos mecanismos de resistencia, vuelven difícil el tratamiento de las infecciones causadas por esta bacteria (Luján et al., 2018).

Los mecanismos de virulencia de *P. aeruginosa* incluyen la producción de adhesinas, quorum sensing (QS), toxinas, sistemas de secreción, formación de biopelícula y resistencia a antibióticos (Moradali et al., 2017). (Fig. 1).

Además, es capaz de producir piocianina un pigmento azul, piorubina un pigmento marrón rojizo y piomelanina un pigmento que va del café al negro, algunos involucrados en la respuesta inflamatoria y daño al tejido durante la patogénesis (Hossain, 2014).

Los factores de adhesión incluyen el pili, flagelo y la producción de lipopolisacáridos (LPS), que también contribuyen a la movilidad y son esenciales para el establecimiento de las infecciones agudas (Curran et al., 2018). La biogénesis y función del pili tipo IV de *P. aeruginosa* está controlada por numerosos genes que incluyen proteínas de la estructura y regulación del ensamble del pili. Los genes que codifican componentes estructurales y de regulación del flagelo están localizados en tres regiones del cromosoma de *P. aeruginosa* PAO1 (Rem, 2008) (Tabla 2).

Adicionalmente, *P. aeruginosa* presenta dos grupos de motores flagelares codificados por los genes *motAB* y *motCD*, que contribuyen a la movilidad, y genes que codifican proteínas quimiotácticas (*cheYZ*, *cheAB*, *cheW* y *cheVR*) (Rem, 2008).

Un importante factor de virulencia en *P. aeruginosa* es el LPS, ya que al ser el mayor componente de la membrana externa protege a la bacteria de las defensas del huésped, media la respuesta inflamatoria a la endotoxicidad inducida y juega un rol importante en la fijación a la superficie (King et al., 2009). El LPS de *P. aeruginosa* está compuesto de tres regiones, las cuales desempeñan un papel distinto en el proceso infeccioso (Kintz y Goldberg, 2008) (Tabla 3).

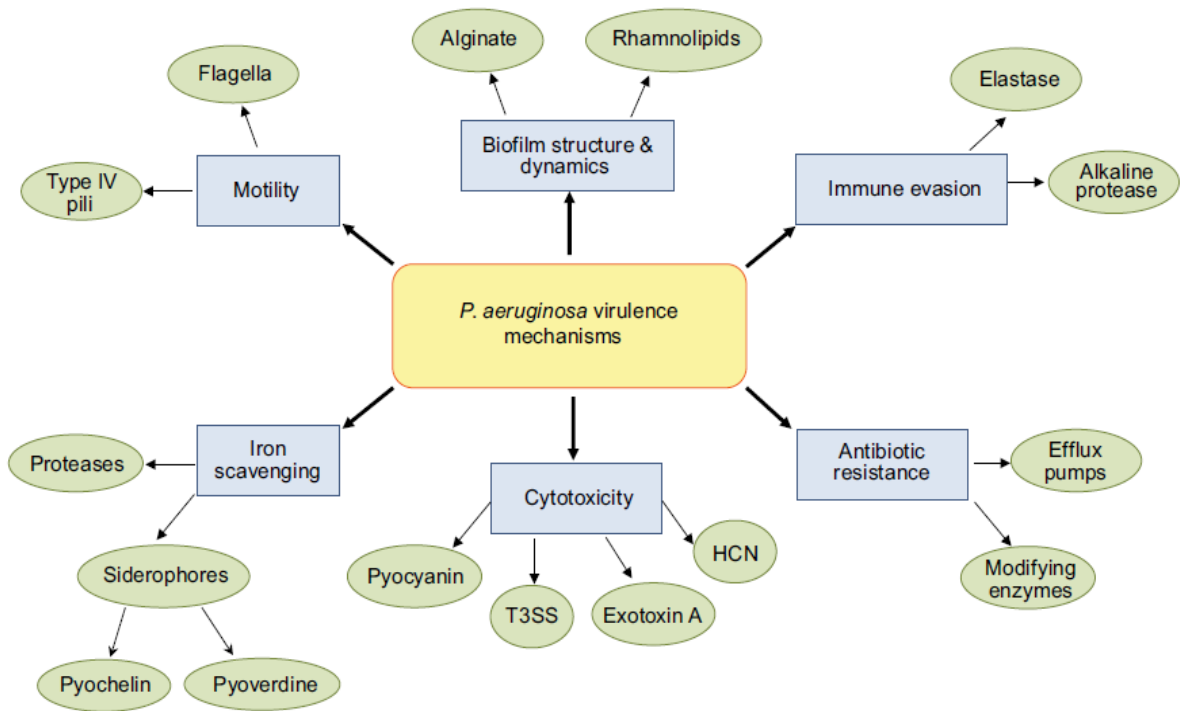


Fig.1. Mecanismos de virulencia empleados durante la infección por *P. aeruginosa*. Tomado de Lee y Zhang, 2014.

Tabla 2. Genes de biogénesis del pili y flagelo en *P. aeruginosa* PAO1 (Rem, 2008).

	Gen	Nombre de la proteína/ función
Pili	<i>pilT</i>	proteína de twitching motility
	<i>pilU</i>	proteína de twitching motility
	<i>pilG</i>	proteína de twitching motility
	<i>pilH</i>	proteína de twitching motility
	<i>pilI</i>	proteína de twitching motility
	<i>pilJ</i>	proteína de twitching motility
	<i>pilK</i>	proteína de twitching motility
	<i>fiimV</i>	proteína de movilidad
	<i>pilZ</i>	proteína de biogénesis fimbrial tipo 4
	<i>pilF</i>	proteína de biogénesis fimbrial tipo 4
	<i>pilB</i>	proteína de biogénesis fimbrial tipo 4
	<i>pilA</i>	precursor fimbrial tipo 4
	<i>fimT</i>	proteína de biogénesis fimbrial tipo 4
	<i>fimU</i>	proteína de biogénesis fimbrial tipo 4
	<i>pilV</i>	proteína de biogénesis fimbrial tipo 4
	<i>pilW</i>	proteína de biogénesis fimbrial tipo 4
	<i>pilX</i>	proteína de biogénesis fimbrial tipo 4
	<i>pilY1</i>	proteína de biogénesis fimbrial tipo 4
	<i>pilY2</i>	proteína de biogénesis fimbrial tipo 4
	<i>pilE</i>	proteína de biogénesis fimbrial tipo 4
	<i>pilQ</i>	proteína de biogénesis fimbrial tipo 4
	<i>pilP</i>	proteína de biogénesis fimbrial tipo 4
	<i>pilO</i>	proteína de biogénesis fimbrial tipo 4
	<i>pilN</i>	proteína de biogénesis fimbrial tipo 4
	<i>pilM</i>	proteína de biogénesis fimbrial tipo 4
	<i>pilD</i>	sensor sistema dos-componentes
	<i>pilS</i>	regulador de respuesta del sistema dos-componentes
	<i>fimS/algZ</i>	proteína de biosíntesis de alginato
<i>fimX</i>	fosfodiesterasa	

Tabla 2. (Continuación)

	Organización cromosomal	Gen	Nombre de la proteína/ función
Flagelo	Región I	<i>flgB</i>	proteína flagelar del cuerpo basal
		<i>flgC</i>	proteína flagelar del cuerpo basal
		<i>flgD</i>	proteína flagelar del cuerpo basal
		<i>flgF</i>	proteína flagelar del cuerpo basal
		<i>flgG</i>	proteína flagelar del cuerpo basal
		<i>flgE</i>	proteína flagelar de gancho
		<i>flgH</i>	precursor de proteína anillo flagelar L
		<i>flgI</i>	precursor de proteína anillo flagelar P
		<i>flgJ</i>	proteína flagelar
		<i>flgK</i>	proteína flagelar asociada a gancho tipo 1
		<i>flgL</i>	proteína flagelar asociada a gancho tipo 3
		<i>fliC</i>	flagelina tipo B
		<i>fliD</i>	proteína de recubrimiento flagelar
		<i>fliS</i>	chaperona flagelar específica
		<i>fleP</i>	control de longitud del pili tipo IV
		<i>fleQ</i>	regulador transcripcional
		<i>fleS</i>	proteína cinasa sistema dos-componentes
		<i>fleR</i>	regulador de respuesta sistema dos-componentes
		<i>fliE</i>	proteína flagelar del cuerpo basal del gancho
	<i>fliF</i>	proteína precursora del anillo flagelar M	
	<i>fliH</i>	proteína de ensamble flagelar	
	<i>fliI</i>	Adenosin trifosfato (ATP) sintasa de flagelo	
	<i>fliJ</i>	chaperona de biosíntesis flagelar	
	Región II	<i>fliK</i>	proteína flagelar de control de longitud del gancho
		<i>fliL</i>	proteína flagelar asociada a cuerpo basal
		<i>fliM</i>	proteína del interruptor del motor flagelar
		<i>fliN</i>	proteína del interruptor del motor flagelar
		<i>fliO</i>	proteína de biosíntesis flagelar
<i>flip</i>		proteína de biosíntesis flagelar	
<i>fliQ</i>		proteína de biosíntesis flagelar	
<i>fliR</i>		proteína de biosíntesis flagelar	
<i>flhB</i>		proteína de biosíntesis flagelar	

		<i>flhA</i> <i>flhF</i> <i>fleN</i>	proteína de biosíntesis flagelar colocación del flagelo polar regulador del número flagelar
	Región III	<i>fliA</i> <i>flgA</i> <i>flgM</i> <i>flgN</i>	factor sigma biosíntesis del cuerpo basal del anillo P flagelar regulador negativo de la síntesis de flagelina biosíntesis flagelar/ chaperona SST3

Tabla 3. Genes de biosíntesis de LPS en *P. aeruginosa* PAO1 (King et al., 2009; Kintz y Goldberg, 2008).

Región	Rol en patogénesis	Genes
Lípido-A	Endotoxicidad, iniciación de la respuesta inflamatoria	<i>lpxA, lpxC, lpxD, lpxH, lpxB, lpxK, lpxL, lpxO, pagL, arnABCDEFT, ugD, phoP, phoQ</i>
Núcleo de oligosacáridos	Fosforilación confiere resistencia a antibióticos, media la entrada a las células	<i>eno, pyrG, kdsA, kdsB, kdsC, kdsD, gmhA, gmhB, hldE, hldD, glk, algC, galU, rmlABCD, waaA, waaC, waaF, waaP, migA, wapR, wapG, wapH, wapQ, wapP, wapO</i>
Antígeno-O	Protección ante fagocitosis y resistencia a la muerte mediada por complemento	<i>wbpL, wpbZ, wbpY, wbpX, wbpW, wzt, wzm, gmd, rmd, algC, wzz1, wzz2</i>

Pseudomonas fluorescens

Puede ser aislada de la piel en pequeña proporción de pacientes donadores de sangre, resultando en septicemia asociada a transfusión. Se ha reportado en muestras clínicas de la boca, estómago y pulmones, pero el sitio más común de infección es la sangre y existe una asociación de *P. fluorescens* con la enfermedad de Crohn, ya que aproximadamente el 50% de los pacientes desarrollan anticuerpos séricos contra ésta (Scales et al., 2014).

Puede colonizar las vías respiratorias, el tracto urinario y la sangre; y se ha demostrado su presencia en el ambiente hospitalario como oportunista. (Rossignol et al., 2008). Se puede adherir a las neuronas y a las células gliales a través de sitios específicos de unión, además presenta algunas características como la expresión de acetilcolinesterasa, ácido gamma aminobutírico (GABA)-aminotransferasa y algunas cepas muestran alta afinidad a los receptores de GABA; por lo que se ha sugerido que puede ser especialmente perjudicial en el tejido nervioso (Picot et al., 2004).

Es considerada una especie psicotrófica ya que tiene la habilidad de crecer en el rango de 0 a 32° C y la temperatura humana no es un impedimento para su desarrollo, como lo demuestra su participación en enfermedades nosocomiales (Bodilis et al., 2004).

Dado a esta adaptabilidad y versatilidad es un también un contaminante común de productos alimenticios como vegetales frescos, sushi, carne y lácteos, lo que la convierte en un problema para la industria alimenticia y el procesamiento de alimentos (Liu et al., 2017).

Es patógena en aves y en una gran variedad de peces de granja como carpas, tilapia, rodaballo y platija japonesa, donde la infección se manifiesta con manchas rojas y puede conducir a la muerte (Wang et al., 2009; Sun y Sun, 2015).

De manera similar a *P. aeruginosa*, *P. fluorescens* contiene múltiples factores celulares de superficie, por ejemplo: LPS, toxinas mediadas por el sistema de

secreción tipo III y moléculas de QS que pueden interactuar con distintas proteínas epiteliales de membrana, como los receptores tipo Toll o receptores glicolipídicos (Madi et al., 2010) (Tabla 4).

Tabla 4. Factores de virulencia caracterizados en *P. fluorescens*.

Factor de virulencia	Genes	Referencia
Proteasas	<i>pspA, pspP, clpP</i>	Rosignol et al., 2008
Fosfolipasa	<i>plcC</i>	
Adhesinas	<i>lapA, lapD, lapG, fha</i>	Scales et al., 2014
Exopolisacáridos (EPS)	<i>pgaB, wcaA, rlpA, mscC, algL</i>	Liu et al., 2017
Peptidoglicano	<i>muiN, glmS, murF</i>	
LPS	<i>hgdh, wzzB, lpxH, rfbC, rfbB, arnT, kdsC</i>	
Porinas extramembrana	<i>oprD, oprF, oprB</i>	
Bombas de eflujo	<i>nodT, mdtB, emrB, mdtC, acrA, acrB</i>	
Autotransportadores de los sistemas de secreción	<i>pfal, tonB, tdrA</i>	Hu et al., 2012

Pseudomonas alcaligenes

Pertenece al grupo de *P. aeruginosa* y es un habitante común del suelo y agua. Es un raro patógeno oportunista en humanos por lo que se sabe poco sobre su importancia clínica y factores de virulencia debido a las dificultades de identificación y diferenciación entre *Pseudomonas* cercanamente relacionadas como *P. aeruginosa* y *P. mendocina* en el entorno médico (Suzuki et al., 2013).

Existen pocos reportes de casos clínicos de infecciones causadas por *P. alcaligenes*, sin embargo, se han reportado casos de infección ocular (Ben-Tovim et al., 1974), enfisema (Pedersen et al., 1970), endocarditis (Valenstein et al., 1983), infección de la sangre en neonato (Araque et al., 2016), y se ha aislado de lentes de contacto pudiendo evolucionar a endoftalmitis en pacientes inmunocomprometidos o con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) (Gus et al., 2005).

Pseudomonas poae

Pseudomonas poae es un miembro del grupo de las pseudomonas que interactúan benéficamente con plantas (Muller et al., 2013). Es una bacteria adaptada al ambiente frío que fue descubierta en la filósfera de hierba en el año 2003 (Behrendt et al., 2003) y desde entonces encontrada alrededor del mundo incluyendo en el desierto frío del Himalaya (Vyas et al., 2009; Gulati et al., 2008).

Algunos estudios se han enfocado en su potencial como promotora de crecimiento en plantas a través de la movilización de fosfato, la producción de metabolitos anti fúngicos y la habilidad de biorremediación en ecosistemas contaminados por la degradación de hidrocarburos (Gulati et al., 2008; Khan et al., 2016).

En el año 2017, Woodring y Farrell reportaron un caso fatal de transfusión sanguínea por esta bacteria y por medio de los análisis de laboratorio se concluyó que puede crecer a una temperatura de 4 a 25 ° C, pero no a 37 ° C; además presenta dos sistemas de sideróforos y captación extracelular de hierro (Woodring y Farrell, 2019).

Debido a la falta de casos clínicos no se ha reportado como patogénica en humanos, aunado a que no tolera pobremente la temperatura corporal. La patogenicidad de esta bacteria parece ser específica al almacenamiento y transfusión de glóbulos rojos (Woodring y Farrell, 2019). Los genes de virulencia no han sido caracterizados.

Pseudomonas salomonii

Es una bacteria aerobia gram-negativa, crece favorablemente a los 4° C pero no a 37° C, y produce un pigmento fluorescente en el medio King. Es el agente causal de la enfermedad de pudrición de primavera o enfermedad de pudrición en ajo; los signos de enfermedad en las plantas afectadas producen puntos claros color café en las hojas, y si las lesiones se expanden se blanquean por completo marchitándose; en algunos casos las partes terrestres colapsan y mueren, en otros casos la superficie de los bulbos y las hojas que los protegen se tornan cafés sin mostrar pudrición dentro de los bulbos. En el año 2020 se reportó por primera vez en Japón como causante de la “enfermedad de pudrición de primavera” y se ha reportado en Francia e Italia como causante de la enfermedad “café au lait” (Sawada et al., 2020). Los genes de virulencia no han sido caracterizados.

Descripción del género *Aeromonas*

Son bacilos cortos Gram negativos, no formadores de esporas, anaerobios facultativos y miden entre 0.3-1.0 μm a 1.0-3.5 μm , la mayoría de las especies son móviles por un flagelo polar con excepción de *A. salmonicida* y *A. media*; en adición a este algunas especies muestran flagelos laterales inducibles distribuidos aleatoriamente en la superficie celular (Talagrand-Reboul et al., 2017). El género comprende 36 especies consideradas autóctonas de ambientes acuáticos (Fernández-Bravo y Figueroas, 2020) como estuarios, agua dulce, agua marina y sedimentos (Talagrand- Reboul et al., 2017); y se han aislado de algunos alimentos como carne, pescado, vegetales y leche cruda (Rincón et al., 2016).

El género *Aeromonas* estaba clasificado como miembro de la familia *Vibrionaceae*, pero por diversos estudios en base al análisis de secuencias de los genes 16S rRNA e hibridación del ADN-ARN, se concluyó que presentaba una filogenia distinta (Castro-Escarpulli et al., 2003). Pertenecen a la clase Gammaproteobacteria y junto con los géneros *Oceanimonas* y *Tolumonas* forman la familia *Aeromonadaceae*.

Las especies que actualmente comprenden el género *Aeromonas* son: *Aeromonas allosaccharophila*, *Aeromonas acuática*, *Aeromonas aquatilis*, *Aeromonas australiensis*, *Aeromonas bestiarum*, *Aeromonas bivalvium*, *Aeromonas cavernícola*, *Aeromonas caviae*, *Aeromonas crassostreae*, *Aeromonas dhakensis*, *Aeromonas diversa*, *Aeromonas encheleia*, *Aeromonas entérica*, *Aeromonas eucrenophila*, *Aeromonas finlandiensis*, *Aeromonas fluviales*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas intestinalis*, *Aeromonas jandaei*, *Aeromonas media*, *Aeromonas molluscorum*, *Aeromonas lacus*, *Aeromonas lusitana*, *Aeromonas piscícola*, *Aeromonas popoffii*, *Aeromonas rivipollensis*, *Aeromonas rivulli*, *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas sanarellii*, *Aeromonas schubertii*, *Aeromonas simiae*, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas taiwanensis*, *Aeromonas tecta*, *Aeromonas trota* y *Aeromonas veronii* (Fernández-Bravo y Figueroas, 2020; List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature, 2020)

El género puede ser clasificado en dos grupos principales; el primero está constituido por *A. salmonicida* con cinco subespecies: *A. salmonicida* subsp. *salmonicida*, *A. salmonicida* subsp. *masousida*, *A. salmonicida* subsp. *achromogenes*, *A. salmonicida* subsp. *smithia* y *A. salmonicida* subsp. *pectinolytica* (Franco et al., 2016); son cepas psicrófilas no móviles que crecen óptimamente a temperaturas de 22 a 25 °C e infectan reptiles y peces; el segundo es un grupo muy grande compuesto de cepas mesófilas y móviles que crecen a temperaturas de 35 a 37° C y están asociadas a enfermedades en humanos como infecciones gastrointestinales, infecciones en heridas y septicemia (Parker y Shaw, 2011; Hoel et al., 2017).

Otra clasificación que se le ha dado al género consta de la división en tres grupos basados en sus características bioquímicas, estando representados por *A. hydrophila*, *A. caviae* y *A. veronii* (Igbinosa et al., 2012).

El complejo *A. hydrophila* está comprendido por *A. hydrophila*, *A. bestiarum* y *A. salmonicida*; el complejo de *A. caviae* está comprendido por *A. caviae*, *A. media* y *A. eucrenophila* (Huddleston et al., 2013); por último, el complejo *A. veronii* comprende *A. veronii* bv sobria, *A. veronii* bv *veronii* y *A. allosaccharophila* (Silver et al., 2011).

Hábitat

Las bacterias del género *Aeromonas* están ampliamente distribuidas en numerosos ecosistemas, aunque son comúnmente encontradas en ambientes acuáticos han sido aisladas de muestras clínicas; además, pueden ser aisladas de animales domésticos, peces, invertebrados, aves y suelos naturales (Janda y Abbott, 2010). Se han aislado de aguas superficiales, aguas subterráneas, agua potable, embotellada, agua marina y agua para irrigación, además tiene una alta incidencia en aguas residuales, donde los tratamientos primarios y secundarios no son capaces de reducir su concentración favorablemente (Fernández- Bravo y Figueroas, 2020).

El agua para irrigación que contiene *Aeromonas* puede contaminar frutas y vegetales y causar infecciones en humanos, actuando como vehículo para la diseminación de esta bacteria (Khajanchi et al., 2010; Pablos et al., 2011). Algunas frutas y vegetales de los que se han aislado incluyen zanahoria, tomate, lechuga, pepino, papa, cebolla y apio (Chang et al., 2008; Nagar et al., 2011); además de lácteos, carnes, peces como tilapia y salmón; y mariscos (Castro-Escarpulli et al., 2003; Hoel et al., 2019; Hoel et al., 2017).

Características metabólicas

Son catalasa, indol y oxidasa positivas, y pueden crecer en medios al 3% de cloruro de sodio (NaCl) pero no en concentraciones salinas del 6%. Son capaces de degradar nitritos a nitratos y son fermentadores de maltosa, galactosa y trehalosa como fuente principal de carbono y energía (Varela et al., 2017). Algunas características de las cepas móviles son la producción de ureasa, pectinasa, ornitina descarboxilasa, triptófano y fenilalanina deaminasa. Son incapaces de fermentar xilosa, sorbosa, eritritol, adonitol, ducitol o producir ácido sulfhídrico cuando crecen en el medio de hierro Kligler (Parker y Shaw, 2011).

Producen numerosas enzimas hidrolíticas extracelulares como esterasas, amilasas, elastasas, desoxirribonucleasas, quitinasas, peptidasas y lipasas; y tienen la habilidad de licuar gelatina pero son incapaces de fermentar inositol (Igbinosa et al., 2012).

La mayoría de las *Aeromonas* crecen óptimamente alrededor de los 28° C, pero pueden crecer en un rango de temperaturas de 4 a 42° C. Las cepas aisladas de alimentos parecen tener una mejor adaptación a las bajas temperaturas y pueden proliferar en refrigeración a temperaturas tan bajas como -0.1° C (Hoel et al., 2017). Resisten rangos de pH de 4.5-9 (Igbinosa et al., 2012); sin embargo algunas especies son reconocidas como sensibles al bajo pH, pero las cepas aisladas de alimentos se han reportado como tolerantes (Hoel et al., 2017).

Crecen en presencia del factor vibriostático O/129 (Fernández-Bravo y Figueroas, 2020) y en medios comunes como Luria Bertani, MacConkey, agar entérico Hektoen, agar nutritivo y agar sangre; donde forman colonias circulares de 1 a 3 mm de diámetro de color grisáceo como resultado de la β -hemólisis y después de tres días cambian a verde oscuro. Se ha sugerido el agar Aeromonas como el más efectivo para su aislamiento ya que contiene agentes selectivos como el verde brillante e Irgasan, que permiten el crecimiento de *Aeromonas* susceptibles a ampicilina (Parker y Shaw, 2011).

Patogenicidad

Son agentes etiológicos de diversas enfermedades alrededor del mundo, sin embargo, en los países en vías de desarrollo, las condiciones socioeconómicas favorecen que la incidencia y prevalencia de enfermedades diarreicas sea un problema de salud pública; ya que habitualmente los estudios para la identificación de patógenos entéricos se enfocan en *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia*, *Campylobacter*, y *Vibrio* (Castro-Escarpulli et al., 2003).

Recientemente, las *Aeromonas* han sido consideradas patógenos entéricos emergentes y están asociados frecuentemente a infecciones en heridas, en el sistema hepatobiliar, en el tracto respiratorio, en tejidos blandos y septicemia en humanos (Ortega et al., 2018).

El género *Aeromonas* comprende patógenos oportunistas en humanos inmunocompetentes e inmunocomprometidos (Nagar y Bandekar, 2011), que pueden causar infecciones intestinales y extraintestinales, siendo la gastroenteritis aguda la enfermedad mayormente asociada en niños y adultos. En niños inmunocomprometidos puede ocasionar severas formas de algunas infecciones como el síndrome urémico-hemolítico y fascitis necrotizante (Khajanchi et al., 2010).

Las infecciones extraintestinales son menos comunes, pero se han descrito en mayor frecuencia en pacientes con enfermedades subyacentes especialmente

neoplasias, cirrosis hepática, diabetes mellitus y en personas en terapia inmunosupresora. Algunas incluyen endocarditis, síndrome urémico-hemolítico, artritis, infecciones abdominales, neumonía, conjuntivitis, osteomielitis, endoftalmitis e infecciones de la piel y partes blandas (Tena et al., 2007).

Los mecanismos conocidos de virulencia de las *Aeromonas* incluyen: 1) fimbrias, flagelo y cápsula que permiten la fijación a la superficie del huésped, 2) toxinas y enzimas como proteasas, elastasas y hemolisinas que causan daño celular y de tejido, 3) sistemas de secreción que permiten la evasión de la respuesta del sistema inmune del huésped, 4) sideróforos que permiten tomar el hierro del huésped, 5) capa-S, lipopolisacáridos y porinas que comprometen las defensas del huésped, 7) formación de biopelícula que permite la adherencia a las superficie celular y 8) los sistemas de QS involucrados en la regulación de la expresión de los genes de virulencia (Tomas, 2012; Da Silva et al., 2017).

Gastroenteritis

Es la enfermedad mayormente asociada con las *Aeromonas*, en casos avanzados puede causar peritonitis, colitis y colangitis. Los individuos inmunocompetentes sin condiciones médicas predisponentes también se ven afectados por la gastroenteritis ligada a estas bacterias. Las principales especies que causan esta enfermedad son *A. hydrophila*, *A. caviae* y *A. veronii*, en la diarrea del viajero las especies asociadas son *A. veronii* y *A. caviae*, siendo esta última prevalente en casos de diarrea pediátrica (Parker y Shaw, 2011).

La diarrea asociada con *Aeromonas* es un fenómeno mundial que se presenta en grupos de cualquier edad, en individuos sanos y en aquellos que sufren de enfermedades subyacentes, desórdenes inmunes o tienen VIH. Algunos estudios alrededor del mundo han reportado una tasa de aislamiento de *Aeromonas* de entre 0.6 y 10% de pacientes con diarrea, principalmente niños (Pablos et al., 2011).

En México, de acuerdo con la Secretaría de Salud las infecciones intestinales fueron el segundo tipo de enfermedad más común en 2019, presentándose la mayoría de los casos en adultos de 25 a 44 años y en niños de 1 a 4 años (Dirección General de Epidemiología [DGE], 2019) por lo que es importante identificar y determinar la incidencia de *Aeromonas* en infecciones gastrointestinales, y así establecer el riesgo que representa para la salud pública, considerando el papel de patógeno entérico emergente que se le ha atribuido recientemente (Ortega et al., 2018).

Usualmente la gastroenteritis se manifiesta en tres formas; como diarrea aguda acuosa, diarrea con sangre y moco tipo disentería, y diarrea crónica; pudiéndose desarrollar en infecciones extraintestinales y en raras ocasiones causar meningitis en pacientes inmunocomprometidos (Parker y Shaw, 2011).

Algunos otros síndromes gastrointestinales atípicos asociados a la infección por *Aeromonas* son enteritis, colitis y complicaciones como el síndrome urémico-hemolítico (Janda y Abbott, 2010).

Patogenicidad

Las *Aeromonas* entran al intestino por medio de la cavidad oral y escapan de los efectos de la acidez gástrica, a su vez producen compuestos tipo bacteriocinas, que facilitan la colonización del intestino. Atacan el epitelio gastrointestinal y forman biopelículas que permiten desplegar los factores de virulencia para causar infección. El pili y flagelo son sumamente importantes en la patogenicidad gástrica ya que permiten la movilidad y facilitan la colonización del intestino (Bhowmick y Bhattacharjee, 2018). Una vez que las bacterias se han establecido en el tracto gastrointestinal, causan diarrea por la producción de enterotoxinas, causando enteritis; o por la invasión del epitelio gastrointestinal produciendo disentería o colitis. Dentro de las enterotoxinas, la aerolisina está presente en el 75% de las cepas de *A. hydrophila*, en otras especies la hemolisina HlyA que es homóloga a la hemolisina de *Vibrio cholerae*; es ubicua en *A. hydrophila*, *A.*

caviae, *A. veronii*, *A. trota* y *A. jandaei*. Una tercera enterotoxina con actividad hemolítica es Act. (Janda y Abbott, 2010).

Infecciones en heridas

Son el segundo tipo más común de infección asociada a *Aeromonas*. La mayoría de los casos afectan a individuos sanos y están asociadas con eventos traumáticos, quemaduras y escaldaduras relacionadas al agua o tierra (Fernández-Bravo y Figueroas, 2020).

Algunas otras formas de adquirir infecciones por *Aeromonas* en heridas resultan de la inmersión total o parcial del tejido lesionado en agua de desagües o arroyos contaminados con esta bacteria. Otra ruta de infección puede resultar por mordidas de diferentes especies de animales; ya que la flora orofaríngea de reptiles y víboras alberga *Aeromonas*, además se ha documentado que los animales como tigres y osos producen mordidas traumáticas que resultan en heridas infectadas por *Aeromonas* como parte de una población microbial mixta (Janda y Abbott, 2010).

Algunas infecciones incluyen celulitis, mionecrosis y ectima gangrenosa; además se han aislado de pacientes con osteomielitis y un gran número de casos de gangrena; se pueden manifestar como pústulas, úlceras o absesos. Menos comunes son las infecciones en quemaduras, heridas quirúrgicas, fracturas y mordeduras de animales. Comúnmente se encuentra asociada con *Enterococcus*, *Clostridia*, *Enterobacter* y *Bacteroides* (Parker y Shaw, 2011).

Patogenicidad

Los factores de virulencia son muy similares a los de *P. aeruginosa*. El primer paso es el asentamiento de la bacteria en el sitio de la herida con por medio de adhesinas como la proteína OmpA, el segundo paso es la producción de proteasas como metaloproteasas, serina proteasas y aminopeptidasas (Bhowmick y Bhattacharjee, 2018); capaces de degradar las proteínas presentes en el tejido conectivo y serum, incluyendo albumina, fibrinógeno, elastina y

colágeno (Janda y Abbott, 2010). El tercer paso incluye la entrada de las bacterias a los tejidos profundos por medio de la movilidad quimiotáctica (Bhowmick y Bhattacharjee, 2018).

Septicemia

La septicemia por *Aeromonas* está asociada con pacientes inmunocomprometidos y con condiciones médicas predisponentes, como falla en la función hepatobiliar y malignidad. En ocasiones suele ocurrir en individuos aparentemente sanos como resultado de infecciones severas en heridas ocasionadas por estas bacterias. La septicemia que se desarrolla en pacientes con heridas severas presenta una tasa de mortalidad de más del 90%; mientras que en los pacientes con cáncer y diabetes es del 25-50% (Parker y Shaw, 2011).

Las principales categorías en las que se presenta septicemia ocurren en: 1) individuos inmunocomprometidos con malignidad o enfermedades hepatobiliares, con un rango de mortalidad del 32-45%; 2) pacientes con trauma, sin enfermedades previas o con múltiples condiciones como diabetes, con un rango de mortalidad del 60%; 3) personas saludables con un rango de mortalidad menor al 20% y 4) pacientes de cirugía reconstructiva que presentan malignidad o heridas traumáticas como resultado de amputación, con un rango de mortalidad menor al 5% (Janda y Abbott, 2010).

Las especies más prevalentes asociadas con infecciones de la sangre son *A. caviae*, *A. veronii*, *A. dhakensis* y *A. hydrophila* (Fernández-Bravo y Figueroas, 2020).

Patogenicidad

La mayoría de los casos de septicemia ocurren por la transferencia de bacterias de heridas infectadas, peritonitis, enfermedad biliar o desde el tracto gastrointestinal al sistema circulatorio (Bhowmick y Bhattacharjee, 2018). Las *Aeromonas* responsables de la mayoría de los casos de septicemia muestran

antígenos lipopolisacáridos que son importantes para causar enfermedades sistémicas, y algunas pertenecen a los serogrupos O:11, O:16, O:18 y O:34. El LPS y la posesión de una capa-S permiten a los aislados bacterémicos la resistencia a los efectos líticos de la vía clásica del complemento (Janda et al., 1994).

Otras infecciones causadas por *Aeromonas*

Algunas infecciones con menor incidencia asociadas con *Aeromonas* son las infecciones respiratorias como neumonía; infecciones del sistema pancreático, infecciones oculares (Janda y Abbott, 2010), infecciones del tracto urinario (Mandal et al., 2010; Tena et al., 2007) y peritonitis bacteriana espontánea (Figueroas et al., 2005; Janda y Abbott, 2010); que ocurre en el 16% de pacientes con cirrosis; sin embargo la mayoría de los casos han sido reportados en pacientes con enfermedades subyacentes, como espina bífida, dilatación renal bilateral y diabetes mellitus (Fernández-Bravo y Figueroas, 2020).

Se ha estimado que el 85% de las infecciones humanas son causadas por *A. hydrophila*, *A. caviae* y *A. veronii* bv. sobria (Nowrotek et al., 2020). Además, del 96.5% de las cepas asociadas a casos clínicos, cuatro especies son las más importantes: *Aeromonas caviae* (29.9%), *Aeromonas dhakensis* (29.3%), *Aeromonas veronii* (24.8%) y *Aeromonas hydrophila* (15.5%). Adicionalmente algunas especies usualmente ligadas a peces como *Aeromonas salmonicida*, han sido reportadas como causantes de infecciones en humanos (Fernández-Bravo y Figueroas, 2020).

Se han descrito diversos factores de virulencia para diferentes especies de *Aeromonas* y pueden ser clasificadas en componentes estructurales, proteínas extracelulares y sistemas de secreción. Algunos como adhesinas, flagelo, toxinas y exoenzimas han sido identificados en *A. hydrophila*, *A. dhakensis*, *A. salmonicida*, *A. jandaei*, *A. veronii* y *A. caviae*, entre otras (Hoel et al., 2019).

Aeromonas hydrophila

Es un patógeno típico de ambientes acuáticos también encontrado en agua potable, aguas residuales y alimentos. Es considerado un patógeno emergente responsable de infecciones como gastroenteritis e infecciones en la piel, además de condiciones sistémicas como peritonitis, bacteremia, meningitis, enfermedad tipo cólera y síndrome urémico-hemolítico (Citterio y Biavasco, 2015).

Es la principal especie dentro las *Aeromonas* involucrada en casos de fascitis necrotizante e infecciones que se adquieren a través de agua contaminada, siendo los individuos inmunocomprometidos los más susceptibles a padecerlas (Fernández-Bravo et al., 2019).

Es el patógeno más comúnmente encontrado en carne de cordero, pollo, res y sus derivados, en leche cruda, leche pasteurizada, queso y vegetales (Stratev y Odeyemi, 2016).

Es capaz de persistir y propagarse en condiciones ambientales variables, y para su supervivencia y adaptación en condiciones hostiles puede potenciar o reprimir algunas características como; las chaperonas que ayudan a la supervivencia bajo estrés térmico, la producción de polihidroxicanoatos para supervivencia en condiciones de nutrientes limitados, bajas temperaturas, exposición a radiación UV, etanol, peróxido de hidrogeno y shock osmótico; proteínas de protección ante bajas abruptas de temperatura y adaptación al choque ácido, ya que sobreviven a un rango de pH entre 4.5-9, pudiendo sobrevivir en pH de 3.5 (Awan et al., 2018).

Los aislados ambientales de *A. hydrophila* producen menos enterotoxinas cuando crecen a 37 ° C en comparación al crecimiento de 28 ° C, mientras que los aislados clínicos producen más enterotoxinas a los 37 ° C que a los 28 ° C, por lo que la temperatura de crecimiento puede ser un parámetro en la expresión de ciertos factores de virulencia (Igbinosa et al., 2012).

Alrededor del mundo se han reportado cepas de *A. hydrophila* resistentes a penicilina y ampicilina, pero susceptibles a aminoglucósidos, tetraciclina,

cloranfenicol, trimetoprima-sulfametoxazol, quinolonas y cefalosporinas de segunda y tercera generación (Stratev y Odeyemi, 2016).

La patogénesis de *A. hydrophila* es multifactorial y está caracterizada por un gran número de factores de virulencia (Tabla 5).

Tabla 5. Factores de virulencia caracterizados en *A. hydrophila*.

Factor de virulencia	Genes	Referencia
Adhesinas y porinas	<i>ompA, ompW, aha, minD</i>	Gao et al., 2018
Aerolisina	<i>aerA, aerB, aerC</i>	
Hemolisina	<i>AHH, hlyA, asa, hcp, lahS</i>	
Enterotoxinas	<i>ast, act</i>	
Serina proteasa	<i>ahp, serA</i>	
Elastasa	<i>ela, ahpB</i>	
Lipasas	<i>alt, apl-1, lip</i>	
Nucleasa	<i>Ahn</i>	Ji et al., 2015
Toxinas y exoenzimas	<i>rtxA, rtxCHBDE, dam, eno, eprA, pla, plc, vacB, tagA, galU</i>	Pang et al., 2015
Capa- S	<i>vapA, ahsA, spsD</i>	
Pili	<i>pilA, flp, msh, tapABC, tpf</i>	Grim et al., 2013; Dong et al., 2018
Flagelina	<i>flaA, flaB</i>	Ávila-Calderón et al., 2018
Flagelo polar	<i>rpoN, flaAB, flaH, fliA, fliM, maf-1, maf-2, flrC</i>	Dong et al., 2018
Flagelo lateral	<i>rpoN, flaA, flaB, flgE, flgN, flhA, fliJ, laFK, maf-5</i>	

Sistemas de secreción	SST2: Act SST3: <i>ascV, acrH, aopD, aopB, aexU/aexT</i> SST6: <i>vasH, vasK, luxO, luxU, luxN, luxPQ, luxS, luxLM, exoA, tseC, clpB, vasA, vasF, hcp-1, hcp-2, vgrG-1, vgrG-2, vgrG-3</i>	Sha et al., 2013; Rasmussen-Ivey et al., 2016
Quorum sensing/ Biopelícula	<i>ahy1, ahyR, luxS, qseB, qseC, vacB, minD, cheY, cheA, cheB, qseC, qseB, clpB, rcsB, rcsF</i>	Talagrand-Reboul et al., 2017; Awan et al., 2018

Los sistemas de secreción caracterizados en *A. hydrophila* son tres, e incluyen el SST2 asociado con la enterotoxina Act; el SST3 asociado con la secreción del efector AexU y Hcp (hemolisina); y el SST6 con dos principales proteínas efectoras Hcp y VgrG, asociadas con los genes *vasH* y *vasK* que son esenciales para la expresión de aquellos genes que codifican o son parte de este sistema (Sha et al., 2013; Rasmussen-Ivey et al., 2016).

El sistema de QS regula la movilidad y la producción de factores de virulencia extracelulares y biopelícula (Talagrand-Reboul et al., 2017; Awan et al., 2018).

Además de estos factores el regulador LahS (*lahS*) asociado a hemólisis está involucrado en la movilidad, formación de biopelícula, producción de proteasas, y virulencia en general (Dong et al., 2018).

Aeromonas caviae

Es un patógeno oportunista causante de infecciones crónicas, a diferencia de *A. hydrophila* y *A. veronii* que son causantes de infecciones agudas; y está asociado a gastroenteritis y bacteremia (Kimura et al., 2012; Chuang et al., 2011). Esta especie está caracterizada como hemolítica y presenta factores de virulencia como

aerolisina, enterotoxinas, y proteasas que son producidos también por otras bacterias del género (Hayes et al., 2010; Dos Santos et al., 2016).

Está más asociada con infecciones relacionadas a la asistencia sanitaria salud y menos asociada con cirrosis que otras especies, esto debido a la poca habilidad de *A. caviae* de producir enterotoxinas citotóxicas (Chuang et al., 2011).

Es móvil por un flagelo polar que permite la formación de biopelícula y la adherencia celular (Jalowiecki et al., 2020), además presenta un sistema flagelar lateral usado para el fenómeno del swarming o movilidad de enjambre, en superficies sólidas. Las dos subunidades que componen el flagelo polar, FlaA y FlaB, se encuentran glicosiladas lo que potencia la virulencia de estas bacterias (Lowry et al., 2014). El locus *flm* codifica productos relacionados con la síntesis de polisacáridos y son requeridos para la síntesis de ácido pseudoamínico, que está presente en el antígeno-O de LPS en *A. caviae* (Parker et al., 2012).

Otros factores de virulencia estudiados incluyen el pili, el SST2 y la movilidad por quimiotaxis (Jalowiecki et al., 2020) (*Tabla 6*).

Algunas cepas de *A. caviae* muestran altos niveles de resistencia a β - lactamasas, trimetoprima y sulfametoxazol; y son susceptibles a cefalosporinas de segunda y tercera generación, carbapenémicos, macrólidos, tetraciclinas y fluoroquinolonas (Nowrotek et al., 2020).

La alta prevalencia de este patógeno en el ambiente debe ser considerada como una gran amenaza para la salud pública, dado que las infecciones causadas por *Aeromonas* son usualmente adquiridas por el consumo de agua y alimentos contaminados (Dos Santos et al., 2016).

Tabla 6. Factores de virulencia caracterizados en *A. caviae*.

Factor de virulencia	Genes	Referencia
Aerolisina	aer	Hayes et al., 2010; Dos Santos et al., 2016
Enterotoxinas	<i>alt, ast, gidA act</i>	
Proteasas	ahp	
Flagelo polar / Biopelícula	<i>flaA, flaB, flaG, flaH, flaJ, maf-1, minD, pomA</i>	Jalowiecki et al., 2020
Flagelo lateral	<i>lafA1, laf2, lafB</i>	Lowry et al., 2014,
Pili	<i>tapT, tapM, tapB, tapO, tapF, tapW, tppA, pilU, mshE, mshL, mshJ, mshK, mshP</i>	Jalowiecki et al., 2020
Quimiotaxis	<i>cheA, cheB, cheY, cheW</i>	
EPS/LPS	<i>flmA, neuA, flmD, neuB, lsg, lst</i>	Parker et al., 2012
Sistema de secreción	<i>exeD, exeE, exeF, exeJ, exeI, exeN</i>	Jalowiecki et al., 2020

Aeromonas veronii

Es un patógeno ampliamente distribuido especialmente en ambientes de agua fresca, con una enorme adaptabilidad. Se han reportado brotes de infecciones en peces, aves, ganado y animales de carne roja como camellos. Además, ha sido reportado como agente etiológico de infecciones gastrointestinales y un amplio espectro de infecciones extraintestinales, como infecciones en heridas, septicemia,

infecciones de piel y tejidos blandos y artritis séptica en humanos (Yang et al., 2019).

Se ha reportado como causante de fascitis necrotizante principalmente en Japón y septicemia en pacientes inmunocomprometidos. La septicemia causada por esta bacteria puede resultar de la producción de gas intravascular con embolia gaseosa y la muerte (Cui et al., 2007).

De igual manera, es causante de infecciones en ancianos y niños con baja inmunidad y los individuos inmunocompetentes también se pueden ver afectados (Li et al., 2020).

Algunos factores de virulencia que contribuyen a la patogenicidad incluyen enterotoxinas citotónicas, aerolisina, flagelo polar (Smyrli et al., 2019); y lateral, serina proteasa, elastasas, lipasas, DNasas, colesterol acetiltransferasa (Chen et al., 2019); proteasa sensible a temperatura, colagenasa, adhesinas y hemolisina (Sun et al., 2016), además del pili y la formación de biopelícula (Hadi et al., 2012) (Tabla 7).

A. veronii es resistente a espectinomicina, trimetoprima, gentamicina, estreptomycin y kanamicina; y muestra susceptibilidad a aminoglucósidos, quinolonas, cloranfenicol, y cefotaxima (Zhang et al., 2019).

Tabla 7. Factores de virulencia caracterizados en *A. veronii*.

Factor de virulencia	Genes	Referencia
Aerolisina	<i>aer</i>	Smyrli et al., 2019
Enterotoxinas	<i>ast, act, alt</i>	
Elastasa	<i>ela, ahyB</i>	Chen et al., 2019
Lipasa	<i>lip</i>	
Serina proteasa	<i>ser</i>	
DNasas	<i>exu</i>	
Colesterol acetiltransferasa	<i>gcaT</i>	

Colagenasa	<i>acg</i>	Sun et al., 2016
Proteasa sensible a temperatura	<i>eprA, eprC, eprI</i>	
Hemolisina	<i>hlyD</i>	
Flagelo polar	<i>fla, pomA, pomB, motA, motB, motX, motY, flgG, flgT, fliT, flis</i>	Smyrli et al., 2019
Flagelo lateral	<i>lafA</i>	Chen et al., 2019
Pili/ Biopelícula	<i>mshBACD, tapD, bfp</i>	Hadi et al., 2012

II. ANTECEDENTES

Pseudomonas

Las características de las *Pseudomonas* son diversas y han contribuido ampliamente a su éxito ecológico como patógenos oportunistas, muchas de estas características proveen a estas bacterias con el alcance necesario para su supervivencia y crecimiento bajo condiciones ambientales extremas (Hossain, 2014).

La especie clínicamente más importante y mejor estudiada es *P. aeruginosa*, que se puede aislar fácilmente de instrumentos quirúrgicos, desinfectantes, equipos de ventilación y equipo quirúrgico en general. Algunas otras especies de *Pseudomonas* como *P. fluorescens*, y *P. stutzeri* son frecuentemente aisladas de especímenes clínicos y están implicadas en una gran variedad de infecciones en adultos y pacientes pediátricos (Wisplinghoff y Seifert, 2017). Las infecciones por especies distintas a *P. aeruginosa* normalmente ocurren en pacientes inmunocomprometidos y están asociadas a dispositivos médicos contaminados (Public Health England, 2015).

Una de las principales preocupaciones con respecto a las *Pseudomonas* es su resistencia natural a múltiples agentes antimicrobiales, esta resistencia está ampliamente distribuida para los antibióticos usados convencionalmente; además la formación de biopelícula en superficies y en los sistemas de agua potable, que pueden actuar como reservorios de *P. aeruginosa* y otras especies, vuelven a estos patógenos impermeables a las concentraciones terapéuticas estándares de antibióticos, lo que conlleva a un problema significativo para la salud y la agricultura (Hossain, 2014).

Un factor importante para un gran número de bacterias patógenas incluidas las *Pseudomonas* es la comunicación celular (QS), este proceso es mediado por la producción de moléculas autoinductoras, como las Acil homoserina lactonas (AHLs), además está implicado en la regulación de la formación de biopelícula y el

despliegue de numerosos factores de virulencia, por lo que representa una alternativa de investigación como posible blanco terapéutico para el control de las infecciones crónicas por *Pseudomonas* (Hossain, 2014).

Es importante mencionar que la prevención es el principal factor para el control de las infecciones por *Pseudomonas*. Las medidas preventivas deben enfocarse en la identificación de las fuentes de infección y la interrupción de las vías de transmisión. La vacunación se ha discutido y se han estudiado una gran variedad de determinantes antigénicos como potenciales blancos, por ejemplo, las proteínas extramembranales, flagelo y pili (Wisplinghoff y Seifert, 2017). Sin embargo, aunque han mostrado ser eficaces en modelos animales, se deben investigar otros posibles blancos, que se puedan probar en animales para posteriormente desarrollar el protocolo adecuado para la aplicación en humanos.

Aeromonas

El género *Aeromonas* ha sido reconocido como patógeno de reptiles y otros animales, sin embargo, desde los años 70 se consideran como enteropatógenos y causantes de infecciones cutáneas. Estos organismos se encuentran ampliamente distribuidos en ambientes acuáticos, incluso se han aislado de agua potable clorada, no clorada y agua embotellada, lo que representa un gran riesgo para la salud pública ya que, a diferencia de las *Pseudomonas*, tienen la capacidad de infectar a individuos inmunocompetentes con el potencial de evolucionar a infecciones graves (Castro-Escarpulli et al., 2003).

La transmisión de estas bacterias ocurre principalmente por consumo de agua, alimentos, pescado y mariscos contaminados, así como el contacto directo de heridas con agua contaminada (Varela et al., 2017).

Algunas de las principales preocupaciones respecto a las *Aeromonas*, es que al igual que otras bacterias patógenas como las *Pseudomonas*, son resistentes a múltiples antibióticos que complican el tratamiento de las infecciones, como

aminoglucósidos, carbapenémicos y cefalosporinas (Nolla et al., 2017); éstas bacterias pueden sobrevivir en agua clorada y formar biopelículas en los alimentos y en los sistemas de distribución de agua (Khajanchi et al., 2010; Nagar y Bandekar, 2011), lo que favorece su dispersión y representa una amenaza para la salud pública.

Por lo tanto, con el conocimiento de cómo estas bacterias generan resistencia a antibióticos, que factores están involucrados en la formación de biopelícula y la comunicación celular, se pueden diseñar estrategias de prevención e investigar blancos alternativos al uso de antibióticos para el desarrollo de nuevas estrategias que permitan minimizar la amenaza de las infecciones causadas por estas bacterias.

Una buena estrategia para prevenir la diseminación de cepas de *Aeromonas* involucradas en diarreas es asegurar las medidas sanitarias adecuadas, como la correcta preparación de los alimentos, el lavado de manos, un eficiente sistema de eliminación de aguas residuales, además el saneamiento de instalaciones usadas para el diagnóstico de la salud pública son esenciales para proteger a los individuos de estas cepas (Igbinosa et al., 2012); junto con eso el continuo monitoreo de la calidad del agua es esencial para minimizar los riesgos de salud debido a la presencia de las *Aeromonas* (Batra et al., 2016).

Quorum sensing

Las bacterias se encuentran activas en diversos ecosistemas, pero no solo están presentes como células individuales en estado planctónico, sino que existen en comunidades o grupos sociales donde la comunicación es a través de moléculas de señalización liberadas por los sistemas de QS (Jayaprada et al., 2020).

El QS es la comunicación celular que emplea pequeñas moléculas difusibles llamadas autoinductoras, y las bacterias pueden responder a estas señales para sincronizar la expresión genética y coordinar diversas funciones biológicas como virulencia, movilidad, producción factores de resistencia a antibióticos, transferencia de plásmidos y formación de biopelícula (Fan et al., 2013).

En las bacterias gram-negativas se han descrito tres diferentes sistemas de QS compuestos por un sensor y un autoinductor, los cuales son: el sistema autoinductor tipo 1 (AI-1) basado en moléculas Acil homoserina lactonas (AHLs); el sistema tipo 2 (AI-2) basado en moléculas que son productos de S-adenosil-metionina (AI-1) y que son sintetizadas por la enzima LuxS. Estas moléculas son detectadas por bacterias gram-positivas y gram-negativas por lo que se consideran como “señales autoinductoras universales” ya que tienen funciones de comunicación celular entre especies; y el sistema tipo 3 (AI-3) que está basado en señales tipo hormonas transducidas por el sistema de dos componentes QseBC, donde QseC actúa como el sensor cinasa y QseB es el regulador de respuesta (Talagrand-Reboul et al., 2017).

En las bacterias gram-negativas las AHLs son las responsables de facilitar la señalización, regulación y producción de numerosos factores de virulencia como la adhesión, la secreción de exoenzimas, producción de pigmentos y la formación de biopelícula (Vadakkan et al., 2018; Lu et al., 2019) (*Fig.2*).

En *P. aeruginosa*, el sistema de QS está compuesto de dos circuitos de AHLs llamados LasI/R y RhII/R. El mecanismo de señalización comienza con la producción de AHLs por LasI, estas se difunden al exterior de la célula y en altas concentraciones de unen con LasR (regulador transcripcional); donde algunas actividades como la producción de proteasas, elastasas y exotoxinas son desencadenadas por el complejo LasR-AHLs y a la vez, regulan la expresión de los genes de virulencia implicados en la infección causada por *P. aeruginosa* (Lee y Zhang, 2014) provocando la destrucción del tejido, perjudicando la permeabilidad e inhibiendo la producción de proteínas que promueven la muerte celular (Moradali et al., 2017; Ben Haj et al., 2011) (*Tabla 8*).

Además de desencadenar estos factores de virulencia, también se inicia el segundo sistema RhII/R donde RhII produce una AHL secundaria que se une a RhIR resultando en la producción de productos subsecuentes como sideróforos y piocianina (Vadakkan et al., 2018).

Tabla 8. Factores de virulencia regulados por el sistema de quorum sensing en *P. aeruginosa* (Moradali et al., 2017; Ben Haj et al., 2011).

Factor de virulencia	Genes
Elastasas	<i>lasA, lasB</i>
Proteasa alcalina	<i>Para</i>
Piocianina	operones <i>phzA1-G1</i> y <i>phzA2-G2</i>
Pioverdina	<i>fpvA, pvdA, pvdD, pvdE, pvdS</i>
Piochelina	<i>fptA</i> , operones <i>pchABCD, pchEFGHI</i>
Toxinas	<i>toxA, exoA, exoS, exoT, exoU, exoY</i>
Lectina	<i>LecA</i>
Fosfolipasas	<i>plcB, plcH, plcN</i>
Ramnolípidos	operones <i>rhlAB</i> y <i>rhlC</i>
Cianuro de hidrógeno	operón <i>hcnABC</i>

En las *Aeromonas* solo se ha descrito un sistema AI-1 y se encuentra distribuido en todas las especies; la enzima tipo LuxI conocida como Ahyl en *A. hydrophila* o Asal en *A. salmonicida* sintetiza moléculas AHL que interactúan con la proteína homóloga a LuxR llamada AhyR en *A. hydrophila*, que actúa como regulador transcripcional de diversos genes incluyendo el gen que codifica Ahyl. Como se ha demostrado en otras bacterias patógenas, la activación del sistema AI-1 modula la eficacia biológica en las *Aeromonas*, además está asociado con la maduración del biopelícula y la expresión de varios factores de virulencia como exoenzimas, metaloproteasas, serina proteasas, hemolisina, amilasas, DNAasas, producción de capa-S y producción de pigmentos. Las moléculas AHL no solo están involucradas en la regulación de la virulencia bacteriana sino que también interactúan con las células eucarióticas y juegan un rol en la inmunomodulación de la respuesta inmune del huésped (Talagrand-Reboul et al., 2017).

Además, se ha descrito además un sistema de QS AI-2 que está involucrado en la sobre regulación del “swimming motility” o el desplazamiento por movimiento natatorio, y en la disminución de virulencia y la formación del biopelícula (*Fig. 3*) (Talagrand-Reboul et al., 2017).

El sistema AI-3 se especula que tiene una función similar a las hormonas en eucariotas debido a que QseC es un receptor adrenérgico para epinefrina y norepinefrina. En *Aeromonas*, AI-3 promueve la movilidad tipo “swarming” y “swimming”, y la expresión de factores de virulencia como actividad hemolítica, producción de proteasas, enterotoxinas y toxicidad, además regula la formación de biopelícula. La transcripción de los genes *qseB* y *qseC* está regulada por el sistema AI-1 (*Fig. 4*) (Talagrand-Reboul et al., 2017).

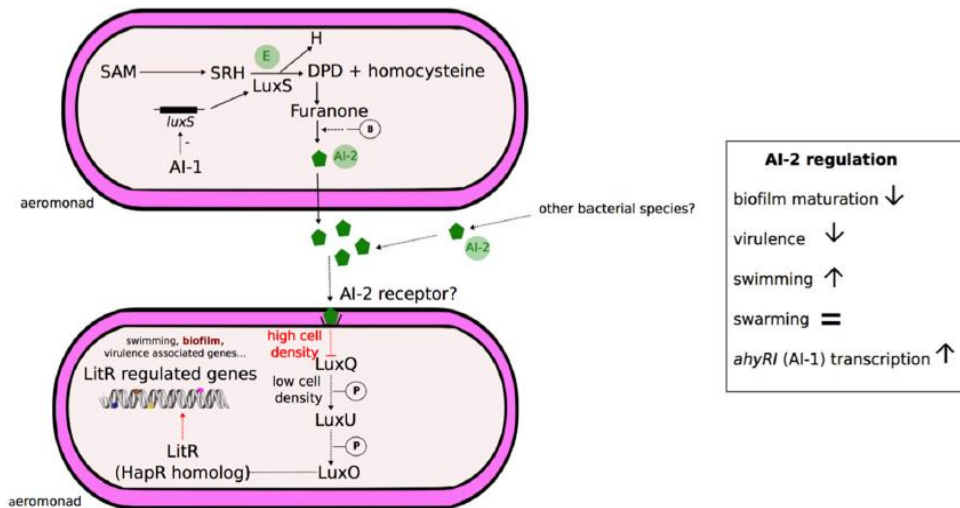


Fig. 3. Representación esquemática del sistema de QS AI-2 en *Aeromonas*. Tomado de Talagrand-Reboul et al., 2017.

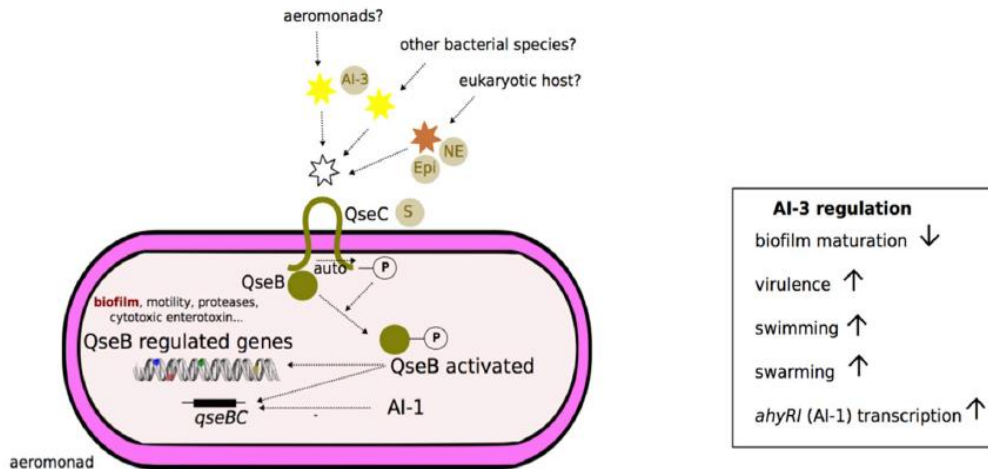


Fig. 4. Representación esquemática del sistema de QS AI-3 en *Aeromonas*. Tomado de Talagrand-Reboul et al., 2017.

Biopelícula

Las bacterias son capaces de vivir como células plantónicas independientes o como miembros organizados de comunidades microbianas llamadas biopelículas, que están compuestas de microorganismos, la matriz de polímeros que ellos producen (Belas, 2014), proteínas y ADN extracelular (ADNe). Las bacterias forman biopelículas en diversas superficies como suelo, lechos de ríos, aguas residuales, respiraderos de aguas profundas y tejidos de plantas y animales (Mukherjee y Bassler, 2019).

Las biopelículas representan un problema particular para los dispositivos caseros de tratamiento de agua que utilizan filtros de carbón o membranas, esto debido a la capacidad que tienen las *Pseudomonas* para reducir su actividad metabólica lo que les permite sobrevivir incluso en agua embotellada por meses (Hossain, 2014); en el caso de las *Aeromonas* pueden formar biopelículas en los sistemas de distribución de agua potable, aún incluso si el agua esta clorada (Talagrand-Reboul et al., 2017); además de las superficies bióticas y abióticas, lo que permite su persistencia en el ambiente y en el cuerpo humano.

La biopelícula de las bacterias puede ser considerada como una de las causas para el desarrollo de resistencia a antibióticos, ya que dentro de esta matriz las bacterias crecen protegidas del estrés ambiental como la desecación, ataques del sistema inmune, ingestión por protozoarios y la exposición a antimicrobiales (Solano et al., 2014).

La formación de biopelícula implica tres pasos secuenciales que inician con la fijación o adhesión reversible de las bacterias a la superficie, seguida de la división celular y producción de una matriz extracelular, y finalmente el desmontaje de la matriz y la dispersión de las bacterias; este último paso es esencial ya que permite a las bacterias escapar y colonizar nuevos nichos cuando los nutrientes se ven limitados y se acumulan desechos (*Fig. 5*) (Solano et al., 2014).

En las *Aeromonas*, al igual que en *P. aeruginosa* la formación del biopelícula incluye los estadios clásicos como son la fijación, formación de micro colonias, maduración y dispersión (Talagrand-Reboul et al., 2017).

En adición, los miembros de las *Aeromonas* despliegan un flagelo lateral inducible que se distribuye aleatoriamente en la superficie celular y es responsable del movimiento tipo enjambre o swarming motility, que contribuye a la formación del biopelícula (Talagrand-Reboul et al., 2017).

La habilidad de *P. aeruginosa* de formar biopelículas provee protección a estrés ambiental, impide la fagocitosis y promueve la capacidad de colonización y persistencia a largo plazo de las infecciones crónicas en pulmones y en heridas; y está regulado efectivamente por la comunicación celular o QS (Thi et al., 2020). Las infecciones donde destaca la relación con la biopelícula incluyen infecciones por dispositivos médicos como dispositivos cardiacos, prótesis articulares, catéteres intravasculares, agujas e injertos vasculares prostéticos (Skariyachan et al., 2018).

El sistema Las y Rhl del QS de *P. aeruginosa* desempeñan un papel importante en la producción de elementos funcionales que impactan en el desarrollo de la biopelícula, los cuales incluyen ramnolípidos, pioverdina, piocianina y polisacáridos; que son necesarios para el desarrollo de biopelículas maduras (Thi et al., 2020). Las

señales autoinducoras del QS tienen un rol importante en los últimos dos estadios de la biopelícula, contribuyendo al control y equilibrio ambiental de este. De esta manera, las estrategias anti-biopelícula implican la inhibición de la matriz extracelular y la fijación bacteriana, así como la interrupción de la señalización del QS (Lu et al., 2019) (Fig. 6)

En *Aeromonas* los tres sistemas de QS son capaces de coordinar e influenciar directamente la formación, mantenimiento y posible dispersión de la biopelícula. En adición el principal, segundo mensajero diguanilato cíclico (c-di-GMP) tiene un impacto en la biopelícula a través de los sistemas de QS, y juega un papel similar al observado en *P. aeruginosa* (Talagrand-Reboul et al., 2017).

La extendida diseminación de las especies de *Aeromonas* es debido a su habilidad de adaptarse a un amplio rango de condiciones ambientales, y su éxito como patógenos está ligado a la formación de biopelícula. La biopelícula en *Aeromonas* es un proceso complejo y es una respuesta a las señales que se encuentran en un ambiente en específico, ya que los factores involucrados en la adhesión parecen ser especie y huésped-específicos, lo que sugiere la evolución de estos organismos de acuerdo con las variadas presiones de selección ambientales (Chenia y Duma, 2016).

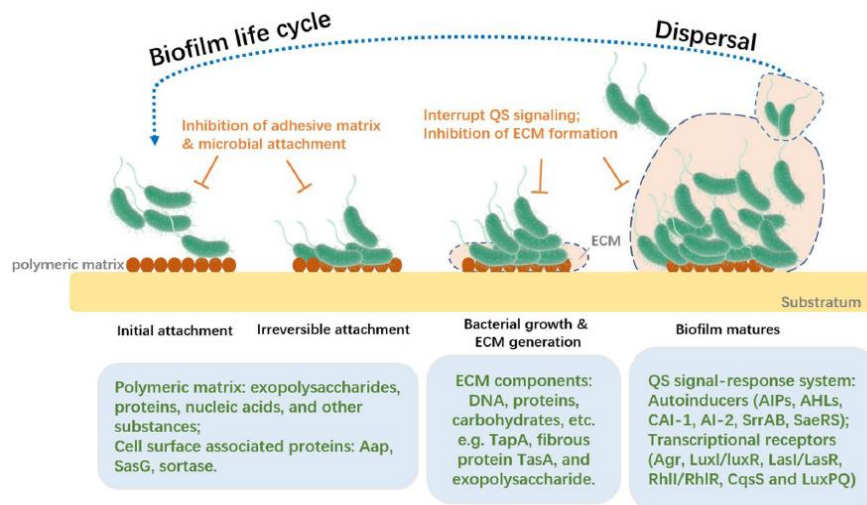


Fig. 5. Etapas de la formación de biopelícula y sus elementos funcionales. Tomado de Lu et al., 2019.

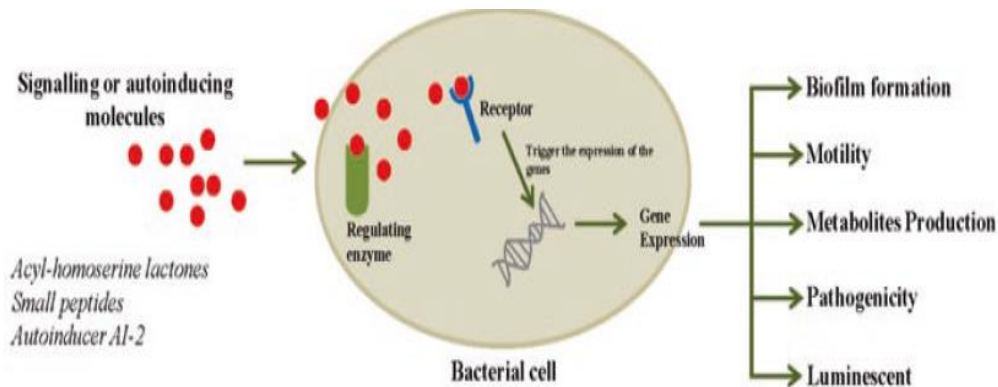


Fig. 6. Mecanismo general de quorum sensing en la formación de biopelícula. Tomado de Bramhachari, 2019.

Composición de la biopelícula

Formado en superficies bióticas y abióticas, el volumen de la biopelícula se encuentra compuesto de alrededor de 15% de células microbianas y el 85% de material de la matriz. Los polímeros extracelulares o exopolisacáridos (EPS) son el principal material orgánico viscoso que forma la estructura de la biopelícula (Skariyachan et al., 2018).

Los ramnolípidos contribuyen al mantenimiento de la arquitectura por la formación de cavidades que permiten el flujo de nutrientes y agua; adicionalmente la producción del polisacárido Pel y ADNe forma interacciones que sirven como componentes de la matriz. La plicianina en unión con ADNe incrementa la viscosidad de la matriz e influyen las interacciones de la biopelícula con el ambiente facilitando la agregación celular. Colectivamente estas moléculas y sus interacciones permiten el establecimiento de una biopelícula madura (Moradali et al., 2017).

Los mayores constituyentes de la biopelícula de *P. aeruginosa* son Psl, Pel y alginato, y están involucrados en la adhesión a superficies y junto con el ADNe

determinan la arquitectura de la biopelícula. Estos EPS desempeñan un rol importante en la resistencia a la respuesta inmune y al tratamiento con antibióticos (Moradali et al., 2017).

En las *Aeromonas* la información relativa a la formación de biopelícula es escasa, sin embargo se sabe que las biopelículas formadas por las bacterias de este género están constituidas principalmente por polisacáridos que contienen N-acetilglucosamina (GlcNAc), ADN y proteínas (Seike et al., 2021)

Psl

Es el principal componente de la matriz de polisacáridos en *P. aeruginosa* y está compuesto de unidades repetidas de pentasacáridos de L-ramnosa, D- glucosa y D-manosa, y está estructurado en dos formas: una de gran peso molecular relacionado a las células y en forma soluble de bajo peso molecular (Skariyachan et al., 2018). Funciona como molécula señalizadora que promueve la producción de c-di-GMP, y en niveles elevados resulta en una biopelícula más robusta y gruesa (Thi et al., 2020).

Psl es sintetizado por proteínas codificadas por el operón *psl* (*pslA-pslO*), donde, por medio de estudios de delección y complementación se ha demostrado que 11 de los 15 genes son requeridos para la síntesis de Psl y están involucrados en la formación y producción de biopelícula (Baker et al., 2015; Byrd et al., 2009).

Solo una de las proteínas codificadas por el operón, PslB, actúa como enzima con actividad guanósín difosfato (GDP)-manosa pirofosforilasa. El operón codifica cuatro glicosiltransferasas (GT) citoplásmicas: PslC, PslF, PslH y PslI; todas son requeridas para la síntesis de Psl pero su rol exacto en el montaje de los pentasacáridos no ha sido determinado. La función de la proteína integral PslA es construir la unidad de repetición sobre el lípido aceptor de manera similar a WbaP, involucrada en la biosíntesis de cápsula en *Escherichia coli*. (Franklin et al., 2011).

Se cree que PslJ y PslK que son maquinarias de polimerasa y flipasa respectivamente, PslL tiene similitud con las acetiltransferasas y puede modificar a Psl durante su producción. PslE tiene similitud con las proteínas de la familia Wzc que son copolimerasas con dominios tirosina cinasas. PslG no es requerido para la producción de Psl pero actúa como glicosilhidrolasa en el periplasma donde se encuentra el polímero naciente. El paso final de la biosíntesis es la secreción a través de la proteína extra membrana PslD (Baker et al., 2015; Franklin et al., 2011).

Este compuesto es el elemento clave en la etapa temprana de la biopelícula donde las células exploran las superficies para la adhesión. Este exopolisacárido se ancla alrededor de las células en forma de arreglo helicoidal y al iniciar la formación de biopelícula promueve la migración celular, la comunicación célula-célula y la adhesión celular; mientras que en la biopelícula madura se localiza en la periferia de las macro colonias (Moradali et al., 2017). La presencia de Psl mejora el enlace cruzado y la elasticidad de la matriz por lo que su ausencia aumenta la viscosidad de la matriz y promueve la difusión de la biopelícula (Skariyachan et al., 2018).

Adicionalmente, Psl previene la activación del complemento y opsonización evadiendo la muerte bacteriana por los fagocitos; media la fijación a las células epiteliales del pulmón y provoca una respuesta inflamatoria perpetuando el daño causado por la inflamación y la infección (Jones y Wozniak, 2017).

Después de la etapa de fijación la expresión del operón *psl* es reprimida y la producción de Psl se localiza cada vez más en el interior de las micro colonias, lo que sugiere un rol importante en la diferenciación de la biopelícula (Overhage et al., 2005).

Pel

Es un exopolisacárido catiónico parcialmente deacetilado de N-acetil-D-glucosamina y N-acetil-D-galactosamina, al igual que Psl, Pel es un componente esencial de la matriz de la biopelícula y está involucrado en la iniciación de la fijación a las superficies, así como en el mantenimiento y la integración de la biopelícula. Pel es responsable de la película que se forma en la interfaz aire-líquido en un cultivo de caldo estático (Thi et al., 2020)., esta formación de película es atribuible a la habilidad de *P. aeruginosa* de sintetizar y secretar el polisacárido Pel (Ghafoor et al., 2013).

Pel es sintetizado por proteínas codificadas por el operón *pel* (*pelA-pelG*) (Marmont et al., 2020) y todas ellas son necesarias para la formación de la película. PelA es una enzima con actividad glicosilhidrolasa, donde seguido de la modificación el polímero es exportado a través del dominio C-terminal de PelB. PelC es una lipoproteína esencial para la producción y se ha sugerido que forma parte de la maquinaria de exportación de Pel (Vasseur et al., 2005; Kowalska et al., 2010). PelD, PelE y PelG son proteínas putativas intramembrana (Franklin et al., 2011); se ha sugerido que PelF es la única glicosiltransferasa codificada por el operón y se ha predicho que utiliza azúcares de nucleótidos como uridina difosfato glucosa (UDP-Glc) como sustratos para la producción del polímero, sin embargo se ha demostrado que Pel se puede producir aún en la ausencia de UDP-Glc (Jennings et al., 2015).

La producción de Pel en la biopelícula media la tolerancia ante los aminoglucósidos y colistina, además vuelve a las células menos susceptibles a la muerte por neutrófilos (Thi et al., 2020; Marmont et al., 2017).

El establecimiento de la biopelícula en superficies solidas es ampliamente dependiente de la presencia del operón *pel* (Skariyachan et al., 2018).

Resistencia a antibióticos

Los antibióticos son ampliamente usados alrededor del mundo y la resistencia a antibióticos se está extendiendo con mayor rapidez que antes. Desde la introducción al uso de antibióticos y el uso de millones de toneladas el transcurso de los años ha provocado una presión de selección y al menos todas las bacterias patógenas han desarrollado resistencia a los antibióticos comúnmente empleados (Zhao et al., 2020).

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2021) se establece que la resistencia a antibióticos representa una gran amenaza para la salud mundial, seguridad alimentaria y el desarrollo; ya que día a día aparecen y se propagan nuevos mecanismos de resistencia a antibióticos que ponen en riesgo la capacidad de tratar las enfermedades infecciosas comunes a medida que los antibióticos pierden eficacia.

La resistencia a los antibióticos ha puesto en riesgo los logros de la medicina moderna, ya que prolonga las estancias hospitalarias, incrementa los costos médicos y aumenta la mortalidad de los pacientes expuestos a estas cepas resistentes (OMS, 2021).

Mecanismos de resistencia a antibióticos

De acuerdo con Vignoli y Seija, 2006; la mayoría de los mecanismos de resistencia se agrupan en tres categorías:

1) Inactivación enzimática por medio de hidrólisis como ocurre con las betalactamasas y betalactámicos, o por medio de acetilaciones, adenilaciones, o fosforilaciones de aminoglucósidos.

2) Modificaciones en el sitio blanco por medio de modificaciones en el gen que codifica el blanco del antibiótico o la adquisición de genes que codifican los sustitutos de los blancos originales.

3) Alteraciones en la permeabilidad, incluye tres tipos:

- i. Alteraciones de la membrana externa que al ser impermeable a sustancias hidrofílicas confina la penetración de sustancias por medio de porinas. Algunas sustancias antibióticas por su tamaño son incapaces de pasar a través de la porinas, lo que disminuye el flujo de llegada del antibiótico al espacio periplásmico.
- ii. Alteraciones en la entrada de antibióticos dependientes de energía.
- iii. Aumento de la salida de antibióticos por medio de múltiples sistemas de bombas de eflujo (Vignoli y Seija, 2006).

La biopelícula como mecanismo de resistencia a antibióticos

Se ha reportado que las bacterias dentro de la biopelícula son 1000 veces más resistentes al tratamiento con antibióticos, ya que se han detectado bacterias con mutaciones en los genes de reparación del ADN y que contribuyen al fenotipo hipermutador; en comparación con el mismo organismo en un estado de vida planctónico, lo que a su vez complica el tratamiento de las infecciones (Bramhachari, 2019).

La biopelícula presenta numerosos factores intrínsecos que influyen la resistencia a antibióticos dentro de estas comunidades ya que la matriz de EPS de la biopelícula actúa como una barrera que imposibilita a los antibióticos alcanzar su objetivo ya que reduce significativamente la permeabilidad a los antibióticos (Chadha, 2014; Zhao et al., 2020).

Dentro de la biopelícula, la alta densidad celular facilita la conjugación entre especies o entre miembros de la misma especie, por ejemplo, en las *Aeromonas* las transferencias genéticas horizontales son importantes para la evolución y la

adecuación biológica, pudiendo ser mejoradas en la biopelícula (Talagrand-Reboul et al., 2017)

La transferencia horizontal de genes principalmente involucra relacionados con la resistencia a antibióticos, lo que genera cierta preocupación acerca de la transmisión entre las comunidades de la biopelícula, ya que contribuye a la emergencia de bacterias multirresistentes a drogas y a la diversidad genética de las comunidades (Bramhachari, 2019).

La terapia con antibióticos elimina las células planctónicas, pero las formas sésiles son resistentes y se continúan propagando dentro de la biopelícula, como consecuencia, la continua liberación de antígenos y producción de anticuerpos eventualmente provoca más daño al tejido circundante; es por esto que las infecciones clínicas ocasionadas por la biopelícula bacteriana han mostrado que el tratamiento con antibióticos no es una solución completa y los pacientes usualmente recaen después de repetidos tratamientos (Chadha, 2014).

La existencia de múltiples mecanismos de resistencia a antibióticos ha dificultado superar y resolver el problema de resistencia microbiana, ya que, en la lucha entre los microorganismos y los antibióticos, más y más bacterias se han convertido en “súper bacterias” (Zhao et al., 2020).

Debido a su gran versatilidad y e intrínseca tolerancia a múltiples detergentes, desinfectantes, compuestos antimicrobiales y antibióticos como: cefalosporinas, tetraciclinas, macrólidos y cloranfenicol, *P. aeruginosa* es difícil de controlar y las infecciones causadas son difíciles de tratar debido a los fenotipos resistentes a drogas y multidrogas; y que son en parte responsables de la alta tasa de mortalidad en pacientes infectados con esta bacteria (Schiavano et al., 2017).

Hay un número limitado de antibióticos activos contra *P. aeruginosa*, y dentro de estos, los carbapenémicos (por ejemplo, imipenem o meropenem) son los utilizados con mayor frecuencia para el tratamiento de las infecciones por *P. aeruginosa* (Li et al., 2012), pero desafortunadamente en los últimos años ha mostrado un incremento

de resistencia a los carbapenémicos, siendo la tasa promedio del 16.5% en Europa y Estados Unidos (European Centre for Disease Prevention and Control, 2019).

Los principales mecanismos de resistencia en *P. aeruginosa* comprenden las β -lactamasas y las alteraciones de la membrana dadas por la presencia de las bombas de eflujo y mutaciones de las porinas extra membranales (Gómez et al., 2005; Khatua et al., 2014).

Porinas/bombas

Algunos genes de *P. aeruginosa* que codifican propiedades inherentes de la estructura celular y que proveen protección contra antimicrobiales son; las porinas *oprD*, *oprF*, *oprH* ; β -lactamasas *ampC* y cuatro bombas de eflujo bien estudiadas MexAB-OprM, MexXY/OprM (OprA), MexCD-OprJ y MexEF-OprN; además de otras bombas como: MexJK, MexGHI-OprM, MexVW, MexPQ,-OpmE, MexMN, y TriABC, las cuales no están expresadas en las cepas salvajes pero contribuyen a la respuesta adaptativa contra los antibióticos en cepas resistentes (Moradali et al., 2017).

La porina OprD es la segunda porina principal de la membrana externa de *P. aeruginosa* y es una de las más investigadas debido a su rol en la resistencia a carbapenémicos, especialmente imipenem y meropenem (Chevalier et al., 2017).

En condiciones normales OprD forma un canal que esta generalmente involucrado en la importación de moléculas básicas de aminoácidos y pequeños péptidos provenientes del medio externo; sin embargo, los carbapenémicos también son importados a través de esta porina y por diversos factores una producción reducida de OprD, causa la insurgencia de la resistencia bacteriana a este compuesto antibiótico (Ducret et al., 2016) (*Fig. 7*).

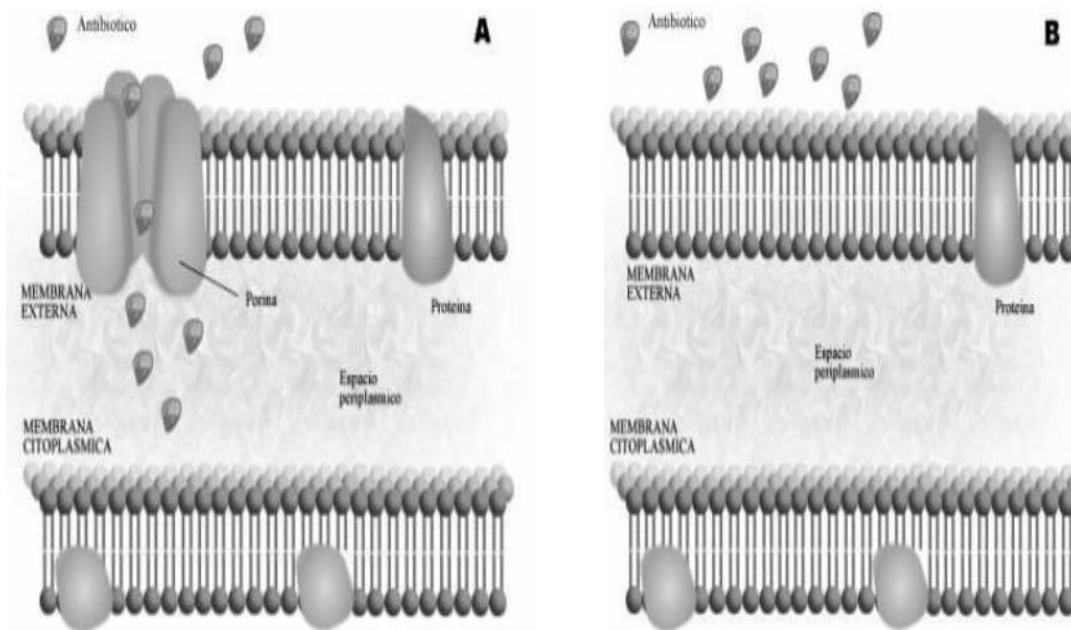


Fig. 7. Esquema de la porina OprD en la membrana externa de *P. aeruginosa*. **a)** La porina permite la entrada del antibiótico al espacio periplásmico. **b)** La ausencia de porina en cepas mutantes otorga resistencia a imipenem y susceptibilidad a meropenem. Tomado de Gómez et al., 2005.

La resistencia a carbapenémicos puede involucrar la baja permeabilidad de la membrana a estos antibióticos, la actividad de una β -lactamasa inducible y sistemas de eflujo de multidroga (Schiavano et al., 2017; Xu et al., 2020), pero el mecanismo más común involucra la disminución o pérdida de la expresión de la porina OprD en la membrana externa debido a la presencia de codones de paro, polimorfismos, inserciones o deleciones en la secuencia de aminoácidos de la proteína (González-Vázquez et al., 2021).

Interesantemente, OprD no solo funciona como canal para el transporte de aminoácidos sino también como serina proteasa (Suresh et al., 2019).

Dentro de las especies del género *Aeromonas* algunas son atractivas candidatas para el estudio de resistencia a antimicrobiales, debido a que son ubicuas en diversos ambientes y a su natural susceptibilidad a los antimicrobiales. Los

ambientes de aguas residuales proveen las condiciones favorables para la dispersión de agentes antimicrobianos y la transmisión de la resistencia antimicrobiana de *Aeromonas*. Se ha demostrado que las *Aeromonas* sirven como vehículo para la diseminación de resistencia antibiótica en el ciclo urbano del agua (Nowrotek et al., 2020).

Entre las especies de las *Aeromonas* están presentes tres clases de β -lactamasas de la clase A, B, C y D las cuales confieren resistencia a penicilina y cefalosporinas; carbapenémicos; cefamicinas y cefalosporinas de segunda y tercera generación, ácido clavulánico, tazobactam y sulbactam; y penicilinas, respectivamente; además de C-cefalosporinasa, D- penicilinasa y metalo β -lactamasa (MBL) clase B. Las cefalosporinasas de la familia AmpC confieren resistencia a cefalosporinas de amplio espectro como ácido clavulánico, tazobactam y sulbactam. CphA es la MBL más ampliamente distribuida entre los aislados de *A. hydrophila* y *A. veronii*, que confieren resistencia a ceftazidima, cefepima, imipenem, y piperacilina-tazobactam (Bhowmick y Bhattacharjee, 2018, Nowrotek et al., 2020).

Entre la resistencia a antimicrobianos se han asociado diferencias genotípicas y fenotípicas dependientes de la especie; por ejemplo, en la distribución de β -lactamasas; en *A. hydrophila* presenta β -lactamasas de la clase B y D, *A. caviae* presenta de la clase C y D, en el caso de *A. veronii* de la clase B y D, y para *A. dhakensis* de la clase B, C y D (Wu et al., 2015).

III. JUSTIFICACIÓN

Los géneros *Pseudomonas* y *Aeromonas* son bacterias patógenas oportunistas que son consideradas de gran importancia médica debido a las enfermedades que pueden producir en nuestra especie, principalmente en individuos inmunocomprometidos. Además, estos géneros bacterianos son heterotróficos y forman parte de la microbiota de hábitats acuáticos. En nuestro grupo de trabajo se han aislado e identificado a las especies *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas poae*, *Pseudomonas salomonii*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae* y *Aeromonas veronii* en muestras de agua purificada provenientes de pequeños establecimientos dedicados a la purificación y venta de garrafones de 20 L de agua en la ciudad de Puebla; con este hallazgo es importante abordar el estudio de estas cepas para evidenciar si presentan características patogénicas, por lo que en este trabajo se planteó iniciar con la búsqueda *in silico* de marcos de lectura abierta (por sus siglas en inglés ORFs) que codifican proteínas hipotéticas homólogas a las que controlan procesos como quorum sensing, la formación de biopelícula y la resistencia a antibióticos, empleando como modelo a los genes de *Pseudomonas aeruginosa* PAO1.

La presencia de bacterias patógenas o patógenas oportunistas presentes en agua para consumo humano es considerado un problema de salud pública que impacta de forma negativa a la población que consume esta agua contaminada, el inicio de la caracterización *in silico* de estas cepas aisladas permitirá generar una directriz en el estudio de estas especies bacterianas para evidenciar si representan un riesgo para la salud de los consumidores de este vital líquido.

IV. HIPÓTESIS

El análisis *in silico* de los marcos de lectura abierta de los genes implicados en virulencia en *P. aeruginosa* PAO1 permitirá identificar las proteínas hipotéticas homólogas que controlan los procesos de quorum sensing, la formación de la biopelícula y la resistencia a antibióticos en especies de los géneros *Pseudomonas* y *Aeromonas*.

V. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Analizar *in silico* los marcos de lectura abierta de los genes implicados en la virulencia de bacterias patógenas oportunistas de algunas especies pertenecientes a los géneros *Pseudomonas* y *Aeromonas* aisladas de agua purificada para consumo humano.

OBJETIVOS PARTICULARES

Identificar *in silico* los marcos de lectura abierta de los genes implicados en virulencia *lasR*, *pelA*, *pslA* y *oprD* en algunas especies pertenecientes al género *Pseudomonas*.

Identificar *in silico* los marcos de lectura abierta de los genes implicados en virulencia *lasR*, *pelA*, *pslA* y *oprD* en algunas especies pertenecientes al género *Aeromonas*.

Analizar *in silico* la presencia del operón *psl* en algunas especies pertenecientes a los géneros *Pseudomonas* y *Aeromonas*.

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

Análisis *in silico* de los marcos de lectura abierta de los genes implicados en la virulencia

Se realizó la búsqueda *in silico* de los genes relacionados con la virulencia de *P. fluorescens* y *P. alcaligenes*, en la base de datos ENTREZ de NCBI debido a que en la literatura son pocos los reportes de genes implicados en la virulencia de estas dos especies.

Además, se buscaron los genes implicados en la virulencia de *P. poae* y *P. salomonii* en la base de datos ENTREZ de NCBI, debido a que no se encontraron reportes en la literatura para ninguna de estas dos especies.

Identificación *in silico* de los marcos de lectura abierta de los genes de virulencia *lasR*, *pelA*, *psIA* y *oprD*

Los genes *lasR*, *pelA*, *psIA* y *oprD* de *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 se emplearon como genes control (*Tabla 9*) debido a la capacidad patogénica ampliamente descrita de esta especie de *Pseudomonas*. Las secuencias de nucleótidos y aminoácidos (*Tabla 10*) se obtuvieron de la base de datos de ENTREZ de NCBI y mediante el alineamiento de secuencias se compararon con el genoma y el proteoma de *P. fluorescens*, *P. alcaligenes*, *P. poae*, *P. salomonii*, *A. hydrophila*, *A. caviae* y *A. veronii*, respectivamente, empleando el algoritmo BLAST de NCBI y UniProt (NCBI, 2021; UniProt, 2021) para identificar a las proteínas hipotéticas homólogas a las secuencias analizadas con las diferentes especies.

Análisis *in silico* de la presencia del operón *psl* en especies de *Pseudomonas* y *Aeromonas*

Se emplearon las secuencias de aminoácidos de 11 de los 15 genes del operón *psl* (*pslA*, *pslB*, *pslC*, *pslD*, *pslE*, *pslF*, *pslG*, *pslH*, *pslI*, *pslJ*, *pslL*) involucrados en la producción del exopolisacárido Psl y la formación de biopelícula en *P. aeruginosa* PAO1. Las secuencias se obtuvieron de la base de datos ENTREZ de NCBI y se compararon con el proteoma de las especies *P. fluorescens*, *P. alcaligenes*, *P. poae*, *P. salomonii*, *A. hydrophila*, *A. caviae* y *A. veronii*, por medio del método de alineamiento de secuencias empleando el algoritmo BLAST de NCBI y UniProt (NCBI, 2021; UniProt, 2021).

Tabla 9. Descripción de los genes de *P. aeruginosa* PAO1 empleados como control (NCBI, 2021; UniProt, 2021).

Gen	ID (NCBI)	Proteína	Función molecular	Proceso biológico
<i>lasR</i>	881789	LasR	Actividad de la proteína activadora de transcripción de ADN	Activador del QS, regulador de genes de virulencia
<i>pelA</i>	878833	PelA	Actividad glicosilhidrolasa, transporte de Pel	Biosíntesis de Pel, formación de biopelícula
<i>pslA</i>	879717	PslA	Actividad fosfotransferasa	Biosíntesis de Psl, formación de biopelícula
<i>oprD</i>	881970	OprD	Actividad de canal, porina y serina proteasa	Transporte de aminoácidos

Tabla 10. a) Secuencias de nucleótidos de *P. aeruginosa* PAO1.

<i>lasR</i>
<p>>NC_002516.2:1558171-1558890</p> <p>ATGGCCTTGGTTGACGGTTTTCTTGAGCTGGAACGCTCAAGTGGAAAATTGGAGTGGAGCGCCATCCTGC AGAAGATGGCGAGCGACCTTGGATTCTCGAAGATCCTGTTTCGGCCTGTTGCCTAAGGACAGCCAGGACTA CGAGAACGCCTTCATCGTTCGGCAACTACCCGGCCGCTGGCGCGAGCATTACGACCCGGGCTGGCTACGCG CGGGTCGACCCGACGGTCAGTCACTGTACCCAGAGCGTACTGCCGATTTTTCTGGGAACCGTCCATCTACC AGACGCGAAAGCAGCAGAGTTCTTCGAGGAAGCCTCGGCCGCCGGCCTGGTGTATGGGCTGACCATGCC GCTGCATGGTGTCTCGCGGCGAACTCGGCGCGCTGAGCCTCAGCGTGGAAGCGGAAAACCGGGCCGAGGCC AACCGTTTCATGGAGTCGGTCCTGCCGACCTGTGGATGCTCAAGGACTACGCACTGCAGAGCGGTGCCG GACTGGCCTTCGAACATCCGGTCAGCAAACCGGTGTTCTGACCAGCCGGGAGAAGGAAGTGTTCAGTG GTGCGCCATCGGCAAGACCAGTTGGGAGATATCGGTTATCTGCAACTGCTCGGAAGCCAATGTGAACCTTC CATATGGGAAATATTCGGCGGAAGTTCGGTGTGACCTCCCCGCCGCTAGCGGCCATTATGGCCGTTAATT TGGGTCTTATTACTCTCTGA</p>

<i>pelA</i>
<p>>NC_002516.2:c3433891-3431045</p> <p>ATGCGGTTACGCAAGAAAGGAATCGCCGTGCTGCGTCTGCCGTCCC GCCGTAACATCCTTCGACCCATCG AGTGCCCGCTCGCCTGGCTTGC CGGCCTGGCGCTGGCGCTTTGTGCCGGCACTGCCGCAGGGGCTGCCGG CGGGCCGTCCAGCGTGGCGTTCTGGTACGCCGAGCGGCCGCCGCTGGCCGAGCTTTC CAGTTTCGACTGG GTGGTGTCTGAAGCGGCGCACCTCAAGCCGGCCGATGTCGGGTATCTGAAAGAGCAGGGCAGCACGCCCT TCGCCTATCTGTTCGGTCGGCGAGTTTCGACGGCGACGCCGCCATCGCCGACAGCGGCCTGGCCCGGGG CAAGAGCGCGGTCCGCAACCAAGCCTGGAACAGCCAGGTAATGGACCTCGCCGCGCCGAGCTGGCGGGCG CACCTGCTCAAGCGCGCCGCGGAGCTGCGCAAACAGGGCTACGCCGGCCTGTTCCCTCGATAACCTGGACA GCTTCCAGCTACAGGCCGAGGAGCGCCGCGAGGCCAGCCGCGCCGCTGGCCAGTTTCCTCGCCAGCT GCATCGCCAGGACCGGGCCTCAAGCTGTTTTTCAATCGCGGTTTCGAAGTGTGCGGAGATTGCCCGGC GTCGCGTCCGGCGGTGGCCGTGGAGTCGATCCATGCCGGTTGGGACGCCGCTGCCGGGCAATACCGCGAGG TGCCCCAGGACGATCGCGATTGGCTGAAGGGTACCTGGATGCCCTGCGCGCCCAGGGCATGCCCATCGT CGCCATCGACTACCTGCCGCCGAGCGGCGCGACGAGGCGCGCGCTCGCTGCGCGCCTGCGTAGCGAA GGCTACGTGCCGTTTCGTCAGCACCCCGCGCTGGACTACCTGGGGGTGAGCGACGTCGAGGTGCAACCGC GCGCATCGCGCTGCTCTACGATCCGCGGAGGGCGACCTGACTCTGAGCCCCGCCACGTCTACCTCGG CGGCCTGCTCGAATACCTCGGTTATCGGGTCGACTACTTGCCCACCGACCAGCCGCTGCCCGAACGTCCG CTGAGCGGTCTCTACGCCGGGTGGTGAACCTGGATGACCAGTGGACCGCCGCTGGCCAGCGACGCCTTCG ACAACTGGATCGCTGCACGTCTCGACGAAAAGGTGCCGGTGGCGTTCCCTCGCCGGCCTGCCACAGAGAA CGACGGCCTGTTGCAGCGCCTGGGTATTCGCCGGCTGTGCGAGAACTCAAGGTCAAGCCGAGCACCGAG ACCACGACCAGGCGCTGCTTGGTTCCCTTCGAAGCGCCGCTGGTGATCCGGATCCGCGACCTGCCGGCGC TCACCGTACTCGATCCGGCGCGGGTGACCCCGCGCTCAAGCTCAAGGGCGACGGCAAGGAGTACGTGCC GGTGGCGACCCCGACTGGGGGGGCTTCGCCCTGGCGCCCTATGTGCTGGAGGAGGGTAGCGAGCACCGG CGCTGGATCCTCGATCCGTTTCGCTTCTGCGCAAGGCCTTTCGCTTGTGCGGCTGCCGAGTCCCAGCG CGACCACCGAGAATGGCCGGCGCATCGCCACCGTGCACATCGATGGCGACGGCTTCGTCTCCCGTGCCGA GGTGCCCGGACGTCCTATGCCGGCCAGCAGGTGCTGGAGGACTTCATCAAGCCCTATCCGTTCCCTACC TCGGTCTCGGTTCGAAGGCGAGGTTCGGGCGAAGGACTGTACCCGCACCTGGCCAGGGAACCTGGAGC CGATCGCCCGGCGCATCTTCGCCGACGACAAGGTTCGAGGCTCGCCAGCCATACTTCAGCCATCCGTTCTT CTGGCAGCCGCAACTGGCCGAGCAGGGCGAGAACTTCGAGGCCAGTATGGCTACAAGATGGCCATCCCG GGCTACGACAAGGTCGACTTCGTACGCGAGGTGATCGGGCGCCGCGACTACATCGAGCAGCGCCTGACCA CCCCCGGAAGCCGGTCAAGATGATCTTCTGGTCCGGCGACGCGCTGCCCGACGCCACCATCAAGCT CGCCTACGACCGGGCTGATGAACGTCAACGGCGGCAATACCGCGCTGACCCGGGCTTTCCTCGCTG</p>

ACCGGACTCTACCCGCTGATCCGGCCACCCGCGGGCGGTGCAGTACTACGCGCCGATCATCAACGAGA
ACGTCTACACCAATCTCTGGCAGGGGCCGTACTACGGCTTCCGCGGGCGTCATCGATAACCTTCGCCCTGAC
CGACAGCCCGCGCCGCTGCGCGGCCCTGCACCTGTACTACCACTTCTATTTCGGGGACCAAGCAGGCCTCG
ATCCGCACCATGCACCAGATCTACGCGGGCGATGCAGGCGGAGCATCCGTTGTGCGCTGTGGATGAGCGATT
ACATCCCGCGCCTGGAAGGCCTGCATCGCGCCAGCCTGGCCAAGCGTGCCGATGGCAGTTGGCAACTGCG
TGGCTTCGCCCCTTGCGCACGGTGCGCCTGGACCCGGCGCTGGGTTGGCCGGACCTCGGCCGCTCCACG
GGAGTCGCGGGCGTGCAGCCTGCCCCAGGGGCGCTATGTGCACCTGAGTGCGGCGAATGCGCGCCTGG
TCCTGCGGACAGCCGCGATCCGCGGGCCGGCGCTGGAGGAGGCCAACCTGCCGCTGAAGCACTGGCGCTA
CCGCGACGATGGCCGCGTCGAGTTCGCCTTCGCGGGCACCTGCCATTACGCCTGGTGGTGCAGCGGGCG
GGCGATTGCCGGCTGAGTGCAGCCGGCAAGGCCTTCCCGGAAAGGCCGGCAACGGCCTGTGGACGTTCCG
AGTTGCCGATGGAGCAGGTGCAGCAGTGGCCAACCTCGTCTGCCGCTGA

psIA

>NC_002516.2:2453667-2455103

ATGCATTGGAAGTCGGTAGATAGCCTGTCGCTGACACGGGCTGGATTTCATCGAGTACTTCTGGTTCGCGA
CCAAACTGGTACACGCGCTCACCGCCATCGCCCCGGCGCTGTTCTGCTGTACTACCCCGCCTGGTTCC
CGTGGAGCTGCGCAGCAACATGCTCGGGCTGCTGCTGTTCTTCGGCGCGCTCACGGTGATTATGTTCCAG
GCACTGGACGTCTACTCCGACGATATCTTCAGCAACCGCCTGCGCTTCCGCATCATGTTCTTCGCTGGG
CCTCGGCGTTCGCTGCTGTTGTTTCATGTACCAGGGCCTGGGCCTGTTTCCCTACCTCAGCAGCAAGCT
GGTGATCTTCTGGTTACCGGCAGCCTGCTGCTGTTTCGGCGTGCAGCGCCTGCTGGTGTGCGCCTGTAC
CGGGCCTGGATGAAACGCGGCATGTACCTGCAACGGACGGTGATCCTCGGCTTCACCGAGAGCGGCATGC
ACCTGGCCGAATACCTGGTACGCAACCACGACATCCGCTCCGGCATCATCGGCTTCATCGACGACCGCTC
CGAGCGGGTCCCGGAGAACTACAACCTCGCTGCCGCTGCTGGGCAACACCAAGGACCTGGAGAAGCTGATC
CGCCAGGAACAGGTGACACAGGTGCTGGTTCGCCCTGCCCTGGTTTCGCCGAGGGGGCGCATCGGCCGCCATCG
TCCACCGCCTGCGGCAATTGCCGGTGAACGTCCTGCTGGTTCGCCGACATGGCTGCCTTCCGGCATGCCCA
CAACCGCATCGTTCGACGTTTCCGGAATCCCCATGTTCAACGCGTCCGAGCTGCCGCTGCGCGGCTGGTTCG
CCGCTGATCAAGCGCTGTGAGGACCTGGTTCCTGGCGAGCATCGCGCTGGTTCCTCTTCGCCCCGCTGATGG
CCCTGGTGGCCCTGGCGATCAGGCTCGACTCCAAGGGGCCGGTGTGTTCCGGCAGAAACGCTACGGCTA
CAACAACCGGCTGATCTGGGTCTTCAAGTTCGCTCGATGTACACGGAAAGGACCGACGCAACGCCGAA
CGCCAGACCACCCGCGACGACACCGCATCACCCGGGTCGGCCGCTTCATCCGCAAGACCAGCATCGACG
AGCTGCCGCGAGTGTTC AACGTGCTCGCCGGCAGCATGTTCGATGGTTCGGCCCGCGCCCCACGCCACCGC
GACCAAGGCCCGCGCATTCCCTTCGAGGAGGCGGTGAGCGAATACAGCTCGCGCCACCGGGTCAAGCCC
GGCATCACCGGCTGGGCGCAGATCAACGGCTACCGCGGTGAGACCGACACCCTGCACAAGATCAAGAAAC
GCGTGGAAATACGACCTCGAATACATCGCCAAGTGGTTCGGTGTGGTTCGACCTCTACATCCTGTTCCGTAC
GGTGCCAGCCGACTCCTGACCAAGGAAGTCTACTGA

oprD

>NC_002516.2:c1045314-1043983

ATGAAAAGTGATGAAGTGGAGCGCCATTGCACTGGCGGTTTTCCGCAGGTAGCACTCAGTTTCGCCGTGGCCG
ACGCATTTCGTACAGCGATCAGGCCGAAGCGAAGGGGTTTCATCGAAGACAGCAGCCTCGACCTGCTGCTCCG
CAACTACTATTTCAACCGTGACGGCAAGAGCGGCAGCGGGACCGCGTCGACTGGACCCAAGGCTTCCTC
ACCACCTATGAATCCGGCTTCACCCAAGGCACTGTGGGCTTCGGCGTCGATGCCTTCGGCTACCTGGGCC
TGAAGCTCGACGGCACCTCCGACAAGACCGGCACCGCAACCTGCCGGTGATGAACGACGGCAAGCCGCG
CGATGACTACAGCCGCGCCGGCGCCGCTGAAGGTGCGCATCTCCAAGACCATGCTGAAGTGGGGCGAG
ATGCAACCGACCGCCCCGGTCTTCGCCGCTGGCGGCAGCCGCTGTTCCCGCAGACCGCGACCGGCTTCC
AGCTGCAGAGCAGCGAATTCGAAGGGCTCGACCTCGAGGCAGGCCACTTCACCGAGGGCAAGGAGCCGAC
CACCGTCAAATCGCGTGGCGAACTCTATGCCACCTACGCAGGCGAGACCGCCAAGAGCGCCGATTTTCATT
GGGGGCCGCTACGCAATCACCGATAACCTCAGCGCCTCCCTGTACGGCGCCGAACTCGAAGACATCTATC
GCCAGTATTACCTGAACAGCAACTACACCATCCCCTGGCATCCGACCAATCGCTGGGCTTCGATTTCAA
CATCTACCGCACAAACGATGAAGGCAAGGCCAAGGCCGGCGACATCAGCAACACCACTTGGTCCCTGGCG
GCAGCCTACACTCTGGATGCGCACACTTTCACCTTGGCCTACCAGAAGGTCCATGGCGATCAGCCGTTTG
ATTATATCGGCTTCGGCCGCAACGGCTCTGGCGCAGGTGGCGACTCGATTTTCTCGCCAACCTCTGTCCA
GTACTCCGACTTCAACGGCCCTGGCGAGAAATCCTGGCAGGCTCGCTACGACCTGAACCTAGCCTCCTAT
GGCGTTCCCGCCTGACTTTTCATGGTCCGCTATATCAATGGCAAGGACATCGATGGCACCAAGATGTCTG
ACAACAACGTCGGCTATAAGAATAACGGCTACGGCGAGGATGGCAAGCACCACGAAACCAACCTCGAAGC
CAAGTACGTGGTCCAGTCCGGTCCGGCCAAGGACCTGTCTGTTCCGCATCCGCCAGGCCTGGCACCGTGCC
AACGCCGACCAGGGCGAAGGCGACCAGAACGAGTTCCGCTGATCGTCGACTATCCGCTGTGATCCTGT
AA

Tabla 10. b) Secuencias de aminoácidos de *P. aeruginosa* PAO1.

LasR

MALVDGFLELERSSSGKLEWSAILQKMASDLGFSKILFGLLPKDSQDYENAFIVGNYPAAWREHYDRA
GYARVDPTVSHCTQSVLPFIWEPSTYQTRKQHEFFEEASAAGLVYGLTMPLHGARGELGALSLSVEA
ENRAEANRFMESVLPWLWMLKDYALQSGAGLAFEHVPVSKPVVLTSSREKEVLQWCAIGKTSWEISVIC
NCSEANVNFHMGNIIRKFGVTSRRVAAIMAVNLGLITL

PelA

MRFSKKGIAVLRRLPSRRNLRPIECPLAWLAGLALALCAGTAAGAAGPSSVAFWYAERPPLAELSQ
FDWVVLEAAHLKPADVGYLKEQGSTPFAYLSVGEFDGDAAIADSGLARGKSAVRNQAWNSQVMDLA
APSWRAHLLKRAAELRKQGYAGLFLDTLDSFQLQAEERREGQRRALASFLAQLHRQEPGLKLFNRRG
FEVLPPELPGVASAVAVESI HAGWDAAAGQYREVPQDDRDWLKGHLDALRAQGMPIVAIDYLPERRD
EARALAARLRSEGYVPFVSTPALDYLGVSDVEVQPRRIALLYDPREGDLTSPGHVYLGGLLEYLGY
RVDYLPDQPLPERPLSGLYAGVVTWMTSGPPLASDAFDNWIAARLDEKVPVAFLAGLPTENDGLLQ
RLGIRRLSOKLKVKVPSTETHDQALLGSFEAPLVIRIRDLPALTVLDPARVTPALKLKGDKKEYVPVA
TADWGGFALAPYVLEEGSEHRRWILDPFAFLRKALRLVPLSPDATTENGRRIATVHIDGDGFVSRA
EVPGPSYAGQQVLEDFIKPYPFLTSVSVIEGEVGPKGMYPHLARELEPIARRIFADDKVEVASHTFS

HPFFWQPQLAEQGENFEAQYGYKMAIPGYDKVDFVREVI GARDYIEQRLTTPRKPVKMIFWSGDALP
DAATIKLAYDAGLMNVNGNTALTRAFPSLTGLYPLIRPTRGGVQYYAPIINENVYTNLWQGPYYGF
RGVIDTFALTDSRRLRGLHLYHFYSGTKQASIRTMHQIYAAMQAEHPLSLWMSDYIPRLEGLHRA
SLAKRADGSWQLRGFAALRTVRLDPALGWPDLGRSTGVAGVRDLPQGRYVHLSAANARLVLRDSRDP
RPALEEANLPLKHWRYRDDGRVEFAFAGHLPLRLVVRAAGDCRLSAAGKAFFPGKAGNGLWTFELPME
QVRDQGQLVCR

PsIA

MHSKSVDSLSTLTRAGFIEYFLVATKLVHALTAIAPALFLLYYPGLVPVELRSNMLGLLLLFFGALTVI
MFQALDVYSDDIFSNRLRFRIMFFAWASAFCLLLFMYQGLGLFPYLSKLVIFWFTGSLLLFGVQRL
LVLRLYRAWMKRGMYLQRTVILGFTESGMHLAEYLVRNHDIRSGIIGFIDDRSERVPENYNLPLLG
NTKDLEKLIRQEQVDQVLVALPWFAEGRIGAI VHRRLRQLPVNVLLVPDMAAFRHAHNRIVDVSGIPM
FNASELPLRGWSPLIKRCEDLVLASIALVLFAPLMALVALAIRLDSKGPVLFQRQRYGYNNRLIWVF
KFRSMYTERTDANAERQTTTRDDDRITRVGRFIRKTSIDELPQLFNVLGSMVMGPRPHATATKAAG
IPFEEAVSEYSSRHRVKPGITGWAQINGYRGETDTLHKIKRVEYDLEYIAKWSVWFVFDLYILFRTPV
AVLLTKEVY

OprD

MKVMKWSAIALAVSAGSTQFAVADAFVSDQAEAKGFIEDSSLDLLLRNYFNRDQKSGSGDRVDWTQ
GFLTYYESGFTQGTGFGVDAFGYLGLKLDGTSDKTGTGNLPMNDGKPRDDYSRAGGAVKVRISKT
MLKWGEMQPTAPVFAAGGSRLFPQTATGFQLOSSEFEGLDLEAGHFTEGKEPTTVKSRGELYATYAG
ETAKSADFIGGRYAITDNLSASLYGAELEDIYRQYYLNSNYTIPLASDQSLGFDFNIYRTNDEGKAK
AGDISNTTWSLAAAYTLDAHTFTLAYQKVHGDQPFDYIGFGRNGSGAGGDSIFLANSVQYSDFNPGP
EKSWQARYDLNLASYGVPGLTFMVRYINGKDIDGTMKSDNNVGYKNGYGEDGKHHETNLEAKYVVQ
SGPAKDLSFRIRQAWHRANADQEGEQNEFRLIVDYPIL

Protocolo del uso de las herramientas bioinformáticas NCBI y UniProt para la búsqueda de genes y alineamiento de secuencias por el algoritmo BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*)

Para la búsqueda de genes y el acceso a las secuencias de nucleótidos y proteínas, es necesario conectarse al servidor de NCBI en la dirección: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> . Posteriormente, en la parte superior de la página

principal aparece una lista desplegable donde se muestran las diferentes bases de datos de la página. Seleccionamos la base de datos de genes y en el criterio de búsqueda se establecen los términos que se desean buscar, por ejemplo *oprD*; y se oprime la opción “Search”.

A continuación se muestra una lista de resultados con el nombre del gen, descripción, nombre del organismo, localización y MIM (mapa de interacción molecular). Al seleccionar la opción deseada se muestra la información detallada del gen que incluye un resumen, el contexto genómico, regiones genómicas, transcritos y productos, donde se muestra una opción “FASTA”. Seleccionamos esta opción y se muestra la secuencia de nucleótidos del gen.

Para obtener la secuencia de aminoácidos, en la misma página debajo de la referencia aparece una opción con el nombre “GenBank”, al seleccionarla se despliega la información relacionada con el gen y en la parte posterior de la página se muestra la secuencia completa de aminoácidos y nucleótidos.

El análisis BLAST en NCBI se realiza accedendo a la página: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. Aquí se muestran diversas opciones de acuerdo al de alineamiento que deseemos, ya sea entre nucleótidos o aminoácidos.

En la parte posterior de la página se muestra una barra de búsqueda donde podemos insertar el nombre del organismo para realizar el alineamiento entre todos los genomas o proteomas disponibles de dicho organismo y para esto, ya insertado el nombre del organismo damos click en “Search”.

A continuación se muestra una página con cuatro pestañas superiores que permiten elegir el tipo de alineamiento que deseamos hacer, ya sea de nucleótidos o aminoácidos, posteriormente en el recuadro que aparece debemos pegar la secuencia obtenida en formato FASTA o ingresar el número de acceso del gen que se encuentra en la base de datos del NCBI, en la parte posterior de la página se encuentra la opción “BLAST” que debemos seleccionar para que se lleve a cabo el alineamiento.

Para el alineamiento de dos o más secuencias, ingresamos a la página principal del BLAST y seleccionamos el tipo de alineamiento ya sea de nucleótidos o aminoácidos. En el recuadro del “Query” pegamos la secuencia en formato FASTA o colocamos el número de acceso del NCBI, en la parte posterior se localiza una casilla que debemos marcar para que se despliegue el recuadro del “Subject” donde ingresamos la otra secuencia, damos click en BLAST y empezará a correr el alineamiento.

En la página de resultados, se muestra una breve descripción de las secuencias que se trabajaron, además de la descripción del alineamiento que incluye los scores, el valor E, y el porcentaje de identidad.

Para la búsqueda de las secuencias en UniProt, debemos acceder al servidor en la dirección: <https://www.uniprot.org/uniprot/>. En la parte superior de la página se muestra una barra de búsqueda donde se deben ingresar los criterios de búsqueda, una vez ingresados se da click en la opción “Search”.

Posteriormente se despliega una lista con la entrada, el nombre de la proteína, el nombre del gen, el organismo y la longitud de la secuencia. Seleccionamos la opción deseada dando clic al valor alfanumérico que aparece en la columna “Entry” y obtendremos toda la información relacionada con ese gen. La secuencia de aminoácidos se localiza en la parte posterior de la página, además se muestran diferentes bases de datos donde también se puede encontrar la secuencia.

El análisis BLAST en UniProt se realiza ingresando a la página: <https://www.uniprot.org/blast/>. En el recuadro que aparece se puede ingresar una secuencia de nucleótidos o aminoácidos en formato FASTA o el valor alfanumérico que aparece en la columna “Entry” cuando buscamos algún gen, por ejemplo: P41143. Posteriormente damos click en la opción “Run BLAST” y comenzará el alineamiento.

En la página de resultados se muestran una visión general de las secuencias de aminoácidos que comparten algún porcentaje de homología con la secuencia del alineamiento, estas se presentan a manera de lista con el número de entrada o el

valor alfanumérico “Entry”, el nombre de la proteína y una barra que representa el porcentaje de identidad en una gama de colores, siendo de color rojo el porcentaje 100 de identidad y azul el porcentaje 0. Al dar click en la barra de color de las proteínas se muestra el alineamiento a detalle de la secuencia de aminoácidos además del resumen con los valores como el porcentaje de identidad, el valor E, score y la longitud de cada secuencia.

Posteriormente y de manera resumida en la página se muestran los alineamientos de las mismas proteínas con el valor E, el score y el porcentaje de identidad; por ultimo en la parte posterior de la página se describe detalladamente las características del alineamiento.

VII. RESULTADOS

Análisis *in silico* de los marcos de lectura abierta de los genes implicados en la virulencia

En la búsqueda de genes implicados en la virulencia en las bases de datos del NCBI para *P. fluorescens* se identificaron a los genes responsables de la biosíntesis del flagelo, pili y los sistemas de secreción (Tabla 11). En la búsqueda para *P. alcaligenes* se obtuvieron genes que codifican el flagelo, el pili, los LPS, la biopelícula, el QS, los sistemas de secreción y resistencia a antibióticos (Tabla 12).

En *P. poae* la búsqueda en la base de datos ENTREZ de NCBI permitió evidenciar que se han descrito algunas proteínas como factores de virulencia como resultado del análisis computacional usando el método de homología de proteínas, sin embargo no hay reportes en la literatura de ningún factor de virulencia (Tabla 13). Para *P. salomonii* no se encontraron genes implicados en la virulencia.

Tabla 11. Factores de virulencia caracterizados en *P. fluorescens* (NCBI, 2021).

Factor de virulencia	Genes
Flagelo	<i>fliD, fliE, fliF, fliG, fliH, fliI, fliJ, fliR, fliN, fliQ, flhA, flhB</i>
Pili	<i>flp, pilP, pilM, pilQ, pilT, pilW, pilV, pilX, fimV</i>
Sistemas de secreción	SST2: <i>gspG, gspK</i> SST3: <i>sctC, sctL, stcQ, sctR, sctS, sctU, sctV, sctW, escU</i> SST4: <i>icmH, dotU</i> SST6: <i>tssA, tssB, tssC, tssE, tssF, tssG, tssH, tssI, tssJ, tssK, tagF, tagH, tagO, hcp, vgrG</i>

Tabla 12. Factores de virulencia caracterizados en *P. alcaligenes* (NCBI,2021).

Factor de virulencia	Genes
Flagelo	<i>fleQ, fliC, fliE, fliF, fliG, fliH, fliI, fliJ, fliK, fliL, fliM, fliN, fliO, fliP, fliQ, fliR, fliS, fliT, flhA, flhB, flhD, flhG, flgA-J, flgK, flgL, flgM, flgN, motA, motB, motY</i>
Pili	<i>pill, pilJ, pilH, pilG, fimX, fimW</i>
LPS	<i>lpxA, lpxB, lpxC, lpxD, lpxH, lpxI, lpxK, waaA, pagL, gmhABC</i>
Biopelícula	<i>psl, alg44, bifA, sadC, mucR</i>
Quorum sensing	<i>aphA, phnA, phnB, rhlA, phzC, qseC, qseB, kdpE, clp, zur, toxB, toxE, toxF, toxI</i>
Sistemas de secreción	SST1: <i>tolC</i> SST2: <i>gspC, gspD, gspE, gspF-M</i> SST6: <i>vgrG, hcp, lip, icmF, dotU, clpV, pppA</i>
Resistencia a antibióticos	<i>mexJK/oprM, mexEF/oprN, ampG, ampC, nagZ, ftsl, nalD, mexA/AcrA, mexB/AcrB</i>

Tabla 13. Proteínas de virulencia descritas en *P. poae* por el método de homología de proteínas (NCBI, 2021).

No. acceso Gen Bank	Función
QOQ75549	Proteína de la familia del factor de virulencia tipo alfa/beta hidrolasa
ROM52731.1 (VirJ)	Sistema de secreción tipo IV y transporte vesicular
QOQ76067.1	Regulador transcripcional, factor virulencia familia B
AZP73236.1 (TusA)	Metabolismo secundario y virulencia/ sulfurotransferasa
ROM52579.1	Factor de virulencia putativo del QS

ROM52570.1 (BrkB) KRP47743.1	Factor de virulencia ribonucleasa Ribonucleasa
ROM50610.1 ROM33879.1	Metaloproteasa tipo serralisina Metaloproteasa tipo serralisina
ROM49808.1 KRP52723.1	Hemolisina Hemolisina
ROM33200.1 (AidA) KRP54719.1	Autotransportador del SST5, adhesina Autotransportador del SST5
KRP51770.1	ATP sintasa flagelo específica, SST3
WP_060549840 (WcaJ)	Fosfotransferasa, biosíntesis de LPS

Identificación *in silico* de los marcos de lectura abierta de los genes de virulencia *lasR*, *peIA*, *psIA* y *oprD*

Empleando el algoritmo BLAST de NCBI para el análisis por comparación de secuencias de nucleótidos de los genes de *P. aeruginosa* PAO1 se encontraron altos porcentajes de identidad en *P. fluorescens* para los cuatro genes: *lasR* (99%), *peIA* (99%), *psIA* (99%) y *oprD* (92%); seguido de *P. poae* que presentó identidad con dos genes: *psIA* (77%) y *oprD* (86%); sin embargo no se encontraron coincidencias en las demás especies analizadas del género *Pseudomonas*, ni tampoco en las tres especies del género *Aeromonas* (Tabla 14).

En el análisis BLAST de NCBI para comparación de secuencias de aminoácidos de los genes de *P. aeruginosa* PAO1 (Tabla 15) se evidenció una pequeña variación respecto a que las únicas especies en presentar homología de secuencias aminoacídicas con porcentajes de identidad variable para los cuatro genes fueron *P. fluorescens*: *lasR* (47%), *peIA* (99%), *psIA* (97.03%), *oprD* (73%) y *P. poae*: *lasR* (30%), *peIA* (65%), *psIA* (69.39%), *oprD* (62%).

En el análisis de las secuencias de aminoácidos del gen *lasR* todas las especies presentaron algún porcentaje de identidad, siendo el mayor el de *P. fluorescens* (47%), seguido de *P. salomonii* (41%).

Con excepción de *P. fluorescens* (99%) y *P. poae* (65%), el gen *pelA* no presentó homología con ninguna de las especies analizadas; el gen *oprD* mostró un alto porcentaje de identidad con *P. alcaligenes* (99%) siendo el mayor entre todas las especies analizadas seguido de *P. fluorescens* (73%), de las tres especies de *Aeromonas* la única que presentó homología fue *A. veronii* (36%), en el caso de *A. hydrophila* y *A. caviae* no se evidenció homología.

El gen *psIA* se identificó en todas las especies de *Pseudomonas* y presentó diferentes porcentajes de identidad, el menor correspondió a *P. alcaligenes* (39.72%) y el mayor a *P. fluorescens* (97.03%); en las especies *A. hydrophila* (42.56%), *A. caviae* (46.39%) y *A. veronii* (45.92%) el porcentaje fue variable pero menor en comparación con las especies del género *Pseudomonas* (Tabla 15).

Por medio del algoritmo BLAST de UniProt, en el análisis por comparación de secuencias de nucleótidos de los genes de *P. aeruginosa* PAO1 se encontraron porcentajes de identidad únicamente en *P. fluorescens* para los cuatro genes: *lasR* (33.3%), *pelA* (69.7%), *psIA* (69.4%), *oprD* (46.8%) (Tabla 16). En el análisis por comparación de las secuencias de aminoácidos los porcentajes de identidad fueron idénticos a los del análisis de secuencias de nucleótidos (Tabla 17).

Tabla 14. Análisis tipo BLAST de NCBI de la secuencia de nucleótidos de los genes *lasR*, *pelA*, *psIA* y *oprD* en especies del género *Pseudomonas* y *Aeromonas*.

Especie	<i>lasR</i>	<i>pelA</i>	<i>psIA</i>	<i>oprD</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100%	100%	100%	100%
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	99%	99%	99%	92%
<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	-	-	-	-
<i>Pseudomonas poae</i>	-	-	77%	86%
<i>Pseudomonas salomonii</i>	-	-	-	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-	-
<i>Aeromonas caviae</i>	-	-	-	-
<i>Aeromonas veronii</i>	-	-	-	-

Tabla 15. Análisis tipo BLAST de NCBI de la secuencia de aminoácidos de los genes *lasR*, *pelA*, *psIA* y *oprD* en especies del género *Pseudomonas* y *Aeromonas*.

Especie	<i>lasR</i>	<i>pelA</i>	<i>psIA</i>	<i>oprD</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100%	100%	100%	100%
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	47%	99%	97.03%	73%
<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	31%	-	39.72%	99%
<i>Pseudomonas poae</i>	30%	65%	69.39%	62%
<i>Pseudomonas salomonii</i>	41%	-	70.02%	60%
<i>Aeromonas hydrophila</i>	29%	-	42.56%	-
<i>Aeromonas caviae</i>	28%	-	46.39%	-
<i>Aeromonas veronii</i>	31%	-	45.92%	36%

Tabla 16. Análisis tipo BLAST de UniProt de la secuencia de nucleótidos de los genes *lasR*, *pelA*, *psIA* y *oprD* en especies del género *Pseudomonas* y *Aeromonas*.

Especie	<i>lasR</i>	<i>pelA</i>	<i>psIA</i>	<i>oprD</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100%	100%	100%	100%
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	33.3%	69.7%	69.4%	46.8%
<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	-	-	-	-
<i>Pseudomonas poae</i>	-	-	-	-
<i>Pseudomonas salomonii</i>	-	-	-	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-	-
<i>Aeromonas caviae</i>	-	-	-	-
<i>Aeromonas veronii</i>	-	-	-	-

Tabla 17. Análisis tipo BLAST de UniProt de la secuencia de aminoácidos de los genes *lasR*, *pelA*, *psIA* y *oprD* en especies del género *Pseudomonas* y *Aeromonas*.

Especie	<i>lasR</i>	<i>pelA</i>	<i>psIA</i>	<i>oprD</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100%	100%	100%	100%
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	33.3%	69.7%	69.4%	46.8%
<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	-	-	-	-
<i>Pseudomonas poae</i>	-	-	-	-
<i>Pseudomonas salomonii</i>	-	-	-	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-	-
<i>Aeromonas caviae</i>	-	-	-	-
<i>Aeromonas veronii</i>	-	-	-	-

Análisis *in silico* de la presencia del operón *psl* en especies de *Pseudomonas* y *Aeromonas*

El análisis de secuencias de aminoácidos con el algoritmo BLAST de NCBI evidenció que las especies *P. fluorescens*, *P. poae* y *P. salomonii* presentaron altos porcentajes de identidad con los once marcos de lectura abierta de los genes analizados del operón *psl* de *P. aeruginosa* PAO1. En el caso de *P. alcaligenes* solo presentó porcentaje de identidad con cuatro: *pslA* (39.72%), *pslB* (60.29%), *pslI* (31.39%), *pslL* (29.04%).

En las especies de *Aeromonas* los resultados fueron diferentes, presentándose porcentajes de identidad variables para cuatro de los once marcos de lectura abierta de los genes del operón en las tres especies. En *A. hydrophila*: *pslA* (56%), *pslB* (56.20%), *pslD* (31.46%), *pslI* (34.29%); *A. caviae*: *pslA* (46.39%), *pslB* (50.11%), *pslD* (32.12%), *pslI* (29.69%) y *A. veronii*: *pslA* (45.92%), *pslB* (56.20%), *pslD* (30.90%), *pslI* (31.09%), para el resto de los marcos de lectura abierta del operón no se encontró identidad (*Tabla 18 a*).

En el análisis de secuencias de aminoácidos con el algoritmo BLAST de UniProt la única especie que evidenció porcentaje de identidad con los once marcos de lectura abierta de los genes analizados del operón *psl* de *P. aeruginosa* PAO1 fue *P. fluorescens*, arrojando porcentajes similares a los del análisis BLAST de NCBI.

P. alcaligenes mostró porcentaje de identidad con el marco de lectura abierta del gen *pslB* (60.3%); y de las especies de *Aeromonas*, únicamente *A. hydrophila* mostró porcentaje identidad con el marco de lectura abierta de dos genes: *pslB* (55.5%) y *pslD* (30.9%) (*Tabla 18 b*)

Tabla 18. Análisis tipo BLAST de las secuencias de aminoácidos de 11 genes del operón *psl* de *P. aeruginosa* PAO1 en especies de *Pseudomonas* y *Aeromonas*.

a)

Especie	psIA	psIB	psIC	psID	psIE	psIF	psIG	psIH	psII	psIJ	psIL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	97.03%	75.88%	77.23%	100%	80.09%	78.28%	71.49%	76.73%	76.02%	78.37%	81.20%
<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	39.72%	60.29%	-	-	-	-	-	-	31.39%	-	29.04%
<i>Pseudomonas poae</i>	69.39%	74.90%	76.90%	73.71%	79.34%	78.15%	70.36%	76.73%	75.41%	77.09%	80.77%
<i>Pseudomonas salomonii</i>	70.02%	74.69%	76.24%	72.91%	76.64%	77.53%	68.10%	75.99%	75.48%	77.04%	81.41%
<i>Aeromonas hydrophila</i>	42.56%	56.20%	-	31.46%	-	-	-	26.89%	34.29%	-	-
<i>Aeromonas caviae</i>	46.39%	50.11%	28.71%	32.12%	-	-	-	-	29.69%	-	-
<i>Aeromonas veronii</i>	45.92%	56.20%	42%	30.90%	-	-	-	25.42%	31.09%	-	-

b)

Especie	psIA	psIB	psIC	psID	psIE	psIF	psIG	psIH	psII	psIJ	psIL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	64.9%	74.3%	75.2%	72.1%	87.4%	77.8%	71.5%	76.20%	74.9%	77.5%	80.7%
<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	-	60.3%	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas poae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

<i>Pseudomonas salomonii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	55.5%	-	30.9%	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aeromonas caviae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aeromonas veronii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

a) Porcentajes de identidad derivado del análisis BLAST de NCBI. **b)** Porcentajes de identidad derivado del análisis BLAST de UniProt.

VIII. DISCUSIÓN

El análisis de secuencias es una de las actividades fundamentales en la bioinformática, ya que representa el primer paso hacia la predicción de una posible función de las secuencias de los nuevos genomas completos que se descubren cada día, siendo la bioinformática esencial para la gestión de datos en la biología moderna (González et al., 2016). Aunado a esto, algunas aplicaciones que se le dan a las bases de datos de secuencias incluyen el diseño de oligonucleótidos para la clonación de genes, el estudio de la filogenia o evolución de las proteínas, la clonación de nuevos genes en especies sin tener mucha información respecto a su genoma y la secuencia de sus genes, y el reconocimiento de los dominios conservados junto con las secciones más relevantes de una secuencia.

En cuanto a la identificación de proteínas, de muchos de los genes que ya han sido secuenciados se desconoce su función biológica y el análisis de secuencias brinda información acerca de los marcos de lectura abierta, de los dominios, y la interacción de las proteínas entre sí, o con el ADN y ARN permitiendo determinar su posible función biológica. Siendo todo esto vital para el mejor entendimiento de los organismos y su importancia biológica (González et al., 2016).

De la búsqueda *in silico* de los genes implicados en la virulencia se puede destacar que *P. alcaligenes* comparte varios de los factores de virulencia descritos para *P. aeruginosa*; pero a diferencia de esta, *P. alcaligenes* se considera un raro patógeno oportunista e incluso se sabe poco sobre su importancia clínica por las dificultades en su identificación y diferenciación entre otras especies de *Pseudomonas* (Suzuki et al., 2014). Los factores de virulencia de *P. alcaligenes* encontrados en este trabajo y que comparte con *P. aeruginosa* incluyen el flagelo, el pili, los LPS, genes implicados en la formación de biopelícula, sistemas de QS, sistemas de secreción y bombas de eflujo. Aunado a esto, también se evidenció un alto porcentaje de identidad del ORF que corresponde a la porina OprD de *P. alcaligenes* mediante el análisis *in silico* con el gen oprD de *P. aeruginosa*, lo que podría indicar que esta especie tiene la capacidad de generar resistencia a antibióticos, específicamente a

carbapenémicos, los cuales son empleados para el tratamiento de las infecciones por *Pseudomonas* (Li et al., 2012).

Actualmente, las infecciones reportadas por *P. alcaligenes* son pocas, pero el hecho de presentar similitud con una gran cantidad de factores de virulencia de *P. aeruginosa*, y la presencia de la porina *oprD* en el genoma de esta especie, son indicadores que sugieren que esta especie podría presentar la capacidad de convertirse en un patógeno oportunista prevalente en el ambiente nosocomial con la habilidad de generar resistencia a antibióticos, lo que dificultaría su tratamiento.

En este trabajo la búsqueda de genes implicados en la virulencia en *P. poae* permitió evidenciar que se han descrito algunas proteínas como factores de virulencia, sin embargo esta no es considerada una bacteria patógena en humanos (Woodring y Farrell, 2019) ya que no existen casos clínicos reportados; además por el tipo de factores de virulencia que presenta como las hidrolasas, sulfurotransferasas, serralisinas y hemolisinas, los resultados serían consistentes con los de Woodring y Farrell, 2019 donde indican que la patogénesis está limitada a los glóbulos rojos en almacenaje; sin embargo se debe tomar en cuenta que podría actuar como oportunista y su presencia implicaría un alto riesgo para la salud en el caso particular de la sangre almacenada para transfusión ya que la presencia de *P. poae* representaría el principal vehículo para su diseminación; enfatizando que los pacientes que requieren transfusiones sanguíneas están en mayor riesgo por el compromiso de su sistema inmune.

En *P. fluorescens* el conocimiento acerca de la formación de biopelícula ha llevado a la descripción de algunos genes implicados en este proceso como los reguladores FleQ, AmrZ y AdnA, implicados en la movilidad y la formación de biopelícula respectivamente; estos reguladores también están involucrados en la síntesis de EPS y la expresión de los operones *psl* y *pel* en *P. aeruginosa* (Blanco-Romero et al., 2018; Robleto et al., 2003). Además se han descrito algunos componentes de la matriz extracelular de *P. fluorescens* como las fibras amiloides que son codificadas por el operón *fap* (*fapABCDEF*) y cuatro clúster de genes involucrados en la

biosíntesis de polisacáridos los cuales son: PNAG, que es codificado por el operón *pgaABCD*, el polisacárido acídico (Pap) codificado por *papA-P*, alginato codificado por *alg*, y levan codificado por *lscA* (Dueholm et al., 2013; Blanco-Romero et al., 2020); y algunas las proteínas de adhesión involucradas en la formación de biopelícula como *lapA*, *lapD* y *mapA* (Collins et al., 2020; Boyd et al., 2014); sin embargo ningún trabajo se había enfocado en la investigación de la posible presencia del operón *psl* o algunas proteínas homólogas en *P. fluorescens*

En este trabajo los resultados generados del análisis de las secuencias de aminoácidos del operón *psl* de *P. aeruginosa* en *P. fluorescens* mostraron un alto porcentaje de identidad en todas las proteínas analizadas, lo cual es consistente con los resultados de Romero-Blanco et al., 2020; donde por medio del análisis de la distribución de los componentes de la matriz de EPS en 611 genomas completos de diversas especies de *Pseudomonas*, determinaron la presencia de algunas proteínas codificadas por el operón *psl*, las cuales incluyen PslC, PslE, PslF, PslG, PslH, PslJ, PslK y PslL; y que se encuentran en más del 75% de los genomas analizados de *P. fluorescens*; además el análisis reveló de manera interesante que las proteínas de *psl* no están presentes en los grupos de especies donde se encuentran las proteínas de *pap* con excepción de algunas otras especies de *Pseudomonas* como *P. chlororaphis* y *P. protegens*. Aunado a esto, analizaron *in silico* el clúster *pap* para describir las funciones de las proteínas, dentro de las cuales se ha descrito a la proteína PapC como ortóloga a la glicosiltransferasa de *P. aeruginosa*, PslA analizada en este trabajo (Blanco-Romero et al., 2020). Estos resultados permiten determinar la posible participación de los productos del operón *psl* en la formación de biopelícula en *P. fluorescens*.

Para *P. poae* no existen en las bases internacionales reportes de los genes ni de los mecanismos relacionados con la producción de EPS o la formación de película en esta bacteria, sin embargo en este trabajo se identificaron las proteínas de virulencia anteriormente descritas. Con los resultados generados en este trabajo se sugiere la posible participación de las proteínas del operón *psl* en la formación de biopelícula en *P. poae*, lo cual sería consistente con su papel como bacteria promotora de

crecimiento vegetal (Muller et al., 2013) o en contraparte, esta característica fisiológica podría implicar un importante factor de virulencia en el caso de que esta bacteria actuara como patógena oportunista.

De manera similar, en *P. salomonii* se desconocen los mecanismos de virulencia y la producción de EPS o la formación de biopelícula y no han sido documentados en las bases de datos internacionales. El resultado del análisis en este trabajo evidenció un alto porcentaje de homología en todas las proteínas estudiadas del operón *psl* de *P. aeruginosa*, por lo que se sugiere que la expresión de estos genes mantengan un posible rol en la formación de biopelícula. *P. salomonii* es una bacteria patógena en ajo y las lesiones de la enfermedad se pueden observar en las hojas y en los bulbos con una coloración café y la consecuente marchitacion de las hojas, sin que el bulbo se vea afectado (Sawada et al., 2020). Sin embargo, no se debe descartar su posible transmisión y patogenicidad en humanos ya que de entre todas las especies de *Pseudomonas* el grupo más cercano monofiléticamente es *P. fluorescens* (Sawada et al., 2020), lo que indicaría que probablemente comparte algunas características patogénicas con esta especie por su origen filogenético.

En las especies de *Aeromonas* el conocimiento de los factores que influyen la formación de biopelícula están limitados al estudio de los genes del flagelo polar (*flaA*, *flaB*), flagelo lateral (*lafA*, *lafB*, *fliU*), pili tipo IV (*tap*, *msh*, *tfp*) y genes de quimiotaxis (*cheA*, *cheB*, *cheY*); por otra parte está bien documentado que el desarrollo de biopelícula en superficies está influenciado por la señalización del QS (Kirov et al., 2004; Awan et al., 2018); sin embargo el mecanismo no está descrito en estas especies.

Otros factores asociados como la capa-S, la auto agregación celular y la producción de enzimas extracelulares desempeñan un papel importante en la adherencia y la formación de biopelícula (Chenia y Duma, 2016); sin embargo es de gran relevancia investigar el desarrollo de la biopelícula debido a que esta estructura es importante para el proceso de adhesión a las superficies bióticas y abióticas; por otra parte este mecanismo de virulencia puede influenciar de manera importante en los procesos

infecciosos causados por estas bacterias, así la caracterización del desarrollo de la biopelícula puede ayudar a prevenir y tratar los brotes de las infecciones causadas por estas bacterias.

Recientemente se ha sugerido el papel de las vesículas extramembrana (VE) en la formación de biopelículas en las *Aeromonas*, debido a su posible participación como transportadores de las moléculas inductoras del QS contribuyendo a la transducción de las señales bacterianas como lo han reportado algunos estudios desarrollados en *P. aeruginosa* (Cooke et al., 2019), *Helicobacter pilory* (Yonezawa et al., 2009), *Vibrio cholerae* (Berk et al., 2012) y *Vibrio fischeri* (Shibata y Visick, 2012) donde muestran que las VE pueden contribuir a la formación de la biopelícula debido a que varias proteínas que constituyen la matriz extracelular de esta, se derivan de la membrana externa, por lo tanto el incremento extracelular de las VE promueve la formación de biopelícula; sin embargo poco es sabido sobre el mecanismo molecular involucrado en la formación de biopelícula en *Aeromonas* (Seike et al., 2021) y la producción de EPS que hasta el momento no está bien entendida y documentada.

En este trabajo, los resultados del análisis con las secuencias de aminoácidos del operón *psl* mostraron que en *A. hydrophila*, *A. caviae* y *A. veronii*, las secuencias de *psIA*, *psIB*, *psID* y *psII* de *P. aeruginosa* presentaron algún porcentaje de identidad con el proteoma de estas especies, sugiriendo que estas proteínas podrían estar presentes e involucradas en algún proceso relacionado con la producción de EPS o la formación de biopelícula en *Aeromonas*.

Un dato importante de resaltar es la diferencia que se obtuvo entre los porcentajes de identidad con el uso de los algoritmos BLAST de las dos plataformas empleadas: NCBI y UniProt. Principalmente esto se debe a que la primera plataforma contiene una base de datos más amplia donde se integran genomas completos de varias especies de bacterias, en cambio en la base de datos de UniProt la información es más especializada en cuanto al número y variedad de genomas existentes, en consecuencia los resultados son más específicos en comparación con el análisis

realizado con el algoritmo BLAST de NCBI. Sin embargo, los resultados que se muestran son consistentes y similares en cuanto a los porcentajes obtenidos en la base de datos de UniProt.

IX. CONCLUSIONES

1. La búsqueda *in silico* en bases de datos permitió identificar algunas proteínas hipotéticas como posibles factores de virulencia en *P. poae* que aún no han sido documentadas en la literatura.
2. Los principales porcentajes de identidad obtenidos en el análisis aminoácidos de los genes *pelA* en *P. fluorescens* (99%), *pslA* en *P. fluorescens* (97.03%) y *P. salomonii* (70.02%); y *oprD* en *P. alcaligenes* (99%) y *P. fluorescens* (73%), permitieron de manera preliminar identificar la presencia de proteínas hipotéticas en el genoma de estas especies, homólogas a las caracterizadas en *P. aeruginosa* PAO1.
3. El análisis *in silico* de las secuencias de aminoácidos de los genes del operón *psl* permitió identificar la presencia de proteínas hipotéticas homólogas en el proteoma de *P. poae* y *P. salomonii*, por lo que esto permite sugerir que estas especies forman biopelícula, la cual puede desempeñar un rol en la patogénesis. En las tres especies de *Aeromonas*, el análisis de las secuencias en este trabajo permitió identificar algunas proteínas hipotéticas como PslA, PslB, PslD y PslI que podrían estar involucradas en la formación de biopelícula.
4. En *P. fluorescens* los resultados del análisis de secuencias de aminoácidos del operón *psl* permiten concluir que esta bacteria posee algunas proteínas hipotéticas homólogas a las del operón *psl* de *P. aeruginosa* PAO1, lo que indica la posible producción del EPS Psl como un componente de la matriz extracelular y la biopelícula.
5. La identificación preliminar de las proteínas hipotéticas homólogas en este trabajo genera una directriz para iniciar el trabajo experimental y determinar la presencia y función de estas proteínas hipotéticas en *P. fluorescens*, *P. poae* y *P. salomonii*, *A. hydrophila*, *A. caviae* y *A. veronii*.

X. BIBLIOGRAFÍA

Abd-El-Malek, A. M. (2017). Incidence and virulence characteristics of *Aeromonas* spp. in fish. *Veterinary World*, 10(1), 34-37.

American Thoracic Society. (2005). Guidelines for the Management of Adults with Hospital-acquired, Ventilator-associated, and Healthcare-associated Pneumonia. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 171(4), 388-416.

Anzai, Y., Kim, H., Park, J., Wakabayashi, H., & Oyaizu, H. (2000). Phylogenetic affiliation of the pseudomonads based on 16S rRNA sequence. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50, 1563-1589.

Araque, M., Flores-Carrero, A., & Paniz-Mondolfi, A. (2016). Nosocomial bloodstream infection caused by *Pseudomonas alcaligenes* in a preterm neonate from Mérida, Venezuela. *Journal of Clinical Neonatology*, 5(2), 131.

Avila-Calderón, E. D., Otero-Olarra, J. E., Flores-Romo, L., Peralta, H., Aguilera-Arreola, M. G., Morales-García, M. R., Calderón-Amador, J., Medina-Chávez, O., Donis-Maturano, L., Ruiz-Palma, M. S., & Contreras-Rodríguez, A. (2018). The Outer Membrane Vesicles of *Aeromonas hydrophila* ATCC® 7966TM: A Proteomic Analysis and Effect on Host Cells. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1-14.

Awan, F., Dong, Y., Wang, N., Liu, J., Ma, K., & Liu, Y. (2018). The fight for invincibility: Environmental stress response mechanisms and *Aeromonas hydrophila*. *Microbial Pathogenesis*, 116, 135-145.

Baker, P., Whitfield, G. B., Hill, P. J., Little, D. J., Pestrak, M. J., Robinson, H., Wozniak, D. J., & Howell, P. L. (2015). Characterization of the *Pseudomonas aeruginosa* Glycoside Hydrolase PslG Reveals That Its Levels Are Critical for Psl Polysaccharide Biosynthesis and Biofilm Formation. *Journal of Biological Chemistry*, 290(47), 28374-28387

Baldissera, M. D., Souza, C. F., Parmeggiani, B., Leipnitz, G., Verdi, C. M., Santos, R. C. V., Stefani, L. M., & Baldisserotto, B. (2018). The disturbance of antioxidant/oxidant balance in fish experimentally infected by *Aeromonas caviae*: Relationship with disease pathophysiology. *Microbial Pathogenesis*, 122, 53-57.

Bassetti, M., Vena, A., Croxatto, A., Righi, E., & Guery, B. (2018). How to manage *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs in Context*, 7, 1-18.

Batra, P., Mathur, P., & Misra, M. C. (2016). *Aeromonas* spp.: An Emerging Nosocomial Pathogen. *Journal of Laboratory Physicians*, 8(01), 001-004.

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.

Beaz-Hidalgo, R., Martínez-Murcia, A., & Figueras, M. J. (2013). Reclassification of *Aeromonas hydrophila* subsp. *dhakensis* Huys et al. 2002 and *Aeromonas aquariorum* Martínez-Murcia et al. 2008 as *Aeromonas dhakensis* sp. nov. comb. nov. and emendation of the species *Aeromonas hydrophila*. *Systematic and Applied Microbiology*, 36(3), 171-176.

Behrendt, U., Ulrich, A., & Schumann, P. (2003). Fluorescent pseudomonads associated with the phyllosphere of grasses; *Pseudomonas trivialis* sp. nov., *Pseudomonas poae* sp. nov. and *Pseudomonas congelans* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(5), 1461-1469.

Belas, R. (2014). Biofilms, flagella, and mechanosensing of surfaces by bacteria. *Trends in Microbiology*, 22(9), 517-527.

Ben Haj Khalifa, A., Moissenet, D., Vu Thien, H., & Khedher, M. (2011). Virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and modes of regulation. *Annales de biologie clinique*, 69(4), 393-403.

Ben-Tovim, T., Eylan, E., Romano, A., & Stein, R. (1974). Gram-negative bacteria isolated from external eye infections. *Infection*, 2(3), 162-165.

Berk, V., Fong, J. C. N., Dempsey, G. T., Develioglu, O. N., Zhuang, X., Liphardt, J., et al. (2012). Molecular architecture and assembly principles of *Vibrio cholerae* biofilms. *Science* 337, 236–239.

Bhowmick, U., & Bhattacharjee, S. (2018). Bacteriological, Clinical and Virulence Aspects of *Aeromonas*-associated Diseases in Humans. *Polish Journal of Microbiology*, 67(2), 137-149.

Blanco-Romero, E., Redondo-Nieto, M., Martínez-Granero, F., Garrido-Sanz, D., Ramos-González, M., Martín, M., & Rivilla, R. (2018). Genome-wide analysis of the FleQ direct regulon in *Pseudomonas fluorescens* F113 and *Pseudomonas putida* KT2440. *Scientific Reports*, 8(1).

Blanco-Romero, E., Garrido-Sanz, D., Rivilla, R., Redondo-Nieto, M., & Martín, M. (2020). In Silico Characterization and Phylogenetic Distribution of Extracellular Matrix Components in the Model Rhizobacteria *Pseudomonas fluorescens* F113 and Other Pseudomonads. *Microorganisms*, 8(11), 1740

Bleves, S., Viarre, V., Salacha, R., Michel, G. P. F., Filloux, A., & Voulhoux, R. (2010). Protein secretion systems in *Pseudomonas aeruginosa*: A wealth of pathogenic weapons. *International Journal of Medical Microbiology*, 300(8), 534-543.

Bodilis, J., Calbrix, R., Guérillon, J., Mérieau, A., Pawlak, B., Orange, N., & Barray, S. (2004). Phylogenetic Relationships Between Environmental and Clinical Isolates of *Pseudomonas fluorescens* and Related Species Deduced from 16S rRNA Gene and OprF Protein Sequences. *Systematic and Applied Microbiology*, 27(1), 93-108.

Boyd, C., Smith, T., El-Kirat-Chatel, S., Newell, P., Dufrene, Y., & O'Toole, G. (2014). Structural Features of the *Pseudomonas fluorescens* Biofilm Adhesin LapA Required for LapG-Dependent Cleavage, Biofilm Formation, and Cell Surface Localization. *Journal Of Bacteriology*, 196(15), 2775-2788.

Bramhachari, P. V. (2019). Implication of Quorum Sensing and Biofilm Formation in Medicine, Agriculture and Food Industry (English Edition) (1st ed. 2019 ed.). Springer.

Byrd, M. S., Sadovskaya, I., Vinogradov, E., Lu, H., Sprinkle, A. B., Richardson, S. H., Ma, L., Ralston, B., Parsek, M. R., Anderson, E. M., Lam, J. S., & Wozniak, D. J. (2009). Genetic and biochemical analyses of the *Pseudomonas aeruginosa* Psl exopolysaccharide reveal overlapping roles for polysaccharide synthesis enzymes in Psl and LPS production. *Molecular Microbiology*, 73(4), 622–638.

Cai, S.-H., Wu, Z.-H., Jian, J.-C., Lu, Y.-S., & Tang, J.-F. (2012). Characterization of pathogenic *Aeromonas veronii* bv. *veronii* associated with ulcerative syndrome from Chinese longsnout catfish (*Leiocassis longirostris* Günther). *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(1), 382-388.

Cai, W., Willmon, E., Burgos, F. A., Ray, C. L., Hanson, T., & Arias, C. R. (2019). Biofilm and Sediment are Major Reservoirs of Virulent *Aeromonas hydrophila* (vAh) in Catfish Production Ponds. *Journal of Aquatic Animal Health*, 31(1), 112-120.

Castro-Escarpulli, G., Aguilera, M. G., Giono, S., Hernandez, C., Chacon, M., Soler, L., Aparicio, G., & Figueroas, M. J. (2003). El género *Aeromonas*. ¿Un patógeno importante en México? *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 22(4), 206-216.

Chadha, T. (2014). Bacterial Biofilms: Survival Mechanisms and Antibiotic Resistance. *Journal of Bacteriology & Parasitology*, 05(03), 1-4

Chang, Y., Wang, J., Selvam, A., Kao, S., Yang, S., & Shih, D. (2008). Multiplex PCR Detection of Enterotoxin Genes in *Aeromonas* spp. from Suspect Food Samples in Northern Taiwan. *Journal of Food Protection*, 71(10), 2094-2099.

Chapalain, A., Rossignol, G., Lesouhaitier, O., Merieau, A., Gruffaz, C., Guerillon, J., Meyer, J., Orange, N., & Feuilloley, M. (2008). Comparative study of 7 fluorescent pseudomonad clinical isolates. *Can. J. Microbiol.*, *54*, 19-27.

Chen, F., Sun, J., Han, Z., Yang, X., Xian, J., Lv, A., Hu, X., & Shi, H. (2019). Isolation, Identification and Characteristics of *Aeromonas veronii* From Diseased Crucian Carp (*Carassius auratus gibelio*). *Frontiers in Microbiology*, *10*, 1-10.

Chenia, H. Y., & Duma, S. (2016). Characterization of virulence, cell surface characteristics and biofilm-forming ability of *Aeromonas* spp. isolates from fish and sea water. *Journal of Fish Diseases*, *40*(3), 339-350.

Chevalier, S., Bouffartigues, E., Bodilis, J., Maillot, O., Lesouhaitier, O., Feuilloley, M. G. J., Orange, N., Dufour, A., & Cornelis, P. (2017). Structure, function, and regulation of *Pseudomonas aeruginosa* porins. *FEMS Microbiology Reviews*, *41*(5), 698-722.

Chuang, H.-C., Ho, Y.-H., Lay, C.-J., Wang, L.-S., Tsai, Y.-S., & Tsai, C.-C. (2011). Different Clinical Characteristics Among *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas veronii* biovar *sobria* and *Aeromonas caviae* Monomicrobial Bacteremia. *Journal of Korean Medical Science*, *26*(11), 1415.

Citterio, B., & Biavasco, F. (2015). *Aeromonas hydrophila* virulence. *Virulence*, *6*(5), 417-418.

Collins AJ, Pastora AB, Smith TJ, O'Toole GA. (2020). MapA, a second large RTX adhesin conserved across the pseudomonads, contributes to biofilm formation by *Pseudomonas fluorescens*. *J Bacteriol* 202:e00277-20.

Cooke, A. C., Nello, A. V., Ernst, R. K., and Schertzer, J. W. (2019). Analysis of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm membrane vesicles supports multiple mechanisms of biogenesis. *PLoS One* 14:e0212275

Cui, H., Hao, S., & Arous, E. (2007). A Distinct Cause of Necrotizing Fasciitis: *Aeromonas veronii* Biovar *Sobria*. *Surgical Infections*, *8*(5), 523-528.

Curran, C. S., Bolig, T., & Torabi-Parizi, P. (2018). Mechanisms and Targeted Therapies for *Pseudomonas aeruginosa* Lung Infection. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *197*(6), 708-727.

Da Silva, L. C. A., Leal-Balbino, T. C., Melo, B. S. T., Mendes-Marques, C. L., Rezende, A. M., Almeida, A. M. P., & Leal, N. C. (2017). Genetic diversity and virulence potential of clinical and environmental *Aeromonas* spp. isolates from a diarrhea outbreak. *BMC Microbiology*, *17*(1), 1.

De Vos, P., Van Landschoot, A., Segers, P., Tytgat, R., Gillis, M., Bauwens, M., Rossau, R., Goor, M., Pot, B., Kersters, K., Lizzaraga, P., & De Ley, J. (1989). Genotypic Relationships and Taxonomic Localization of Unclassified *Pseudomonas* and *Pseudomonas*-Like Strains by Deoxyribonucleic Acid: Ribosomal Ribonucleic Acid Hybridizations. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 39(1), 35-49.

Dirección General de Epidemiología. (2019). *Veinte principales causas de enfermedad Nacional por grupos de edad*. Disponible en: https://epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/2019/principales/nacional/grupo_edad.pdf

Dodd, C. (2014). PSEUDOMONAS | Introduction. *Encyclopedia of Food Microbiology*, 244-247.

Dong, Y., Wang, Y., Liu, J., Ma, S., Awan, F., Lu, C., & Liu, Y. (2018). Discovery of *lahS* as a Global Regulator of Environmental Adaptation and Virulence in *Aeromonas hydrophila*. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(9), 2709.

Dos Santos, P. A., Pereira, A. C. M., Braga, R. L. L., Rosa, A. C. P., & Freitas-Almeida, A. C. (2016). Adhesion and cytotoxicity of *Aeromonas caviae* to rabbit intestinal epithelium ex vivo. *Antonie van Leeuwenhoek*, 109(9), 1261-1270.

Dueholm, M. S., Søndergaard, M. T., Nilsson, M., Christiansen, G., Stensballe, A., Overgaard, M. T., Givskov, M., Tolker-Nielsen, T., Otzen, D. E., & Nielsen, P. H. (2013). Expression of Fap amyloids in *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens*, and *P. putida* results in aggregation and increased biofilm formation. *MicrobiologyOpen*, 2(3), 365–382.

Ducret, V., Gonzalez, M., Scignari, T., & Perron, K. (2016). OprD Repression upon Metal Treatment Requires the RNA Chaperone Hfq in *Pseudomonas aeruginosa*. *Genes*, 7(10), 82.

Eom, J. S., Cheong, H. J., & Kim, W. J. (2009). Pseudobacteremia Outbreak of *Pseudomonas oryzae* in an Emergency Department of a Tertiary Hospital in Korea. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 30(8), 803-804.

European Centre for Disease Prevention and Control. Annual Epidemiological Report (2017). Healthcare-associated infections acquired in intensive care units. Stockholm: ECDC; 2017.

European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net). Annual Epidemiological Report (2019). Stockholm: ECDC; 2020.

Fan, H., Dong, Y., Wu, D., Bowler, M. W., Zhang, L., & Song, H. (2013). QsIA disrupts LasR dimerization in antiactivation of bacterial quorum sensing. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(51), 20765-20770.

Fernández-Bravo, A., Kilgore, P. B., Andersson, J. A., Blears, E., Figueras, M. J., Hasan, N. A., Colwell, R. R., Sha, J., & Chopra, A. K. (2019). T6SS and ExoA of flesh-eating *Aeromonas hydrophila* in peritonitis and necrotizing fasciitis during mono- and polymicrobial infections. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(48), 24084-24092.

Fernández-Bravo, A., & Figueras, M. J. (2020). An Update on the Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Epidemiology, and Pathogenicity. *Microorganisms*, 8(1), 129.

Fernández M, Porcel M, de la Torre J, Molina-Henares MA, Daddaoua A, Llamas MA, Roca A, Carriel V, Garzón I, Ramos JL, Alaminos M and Duque E (2015) Analysis of the pathogenic potential of nosocomial *Pseudomonas putida* strains. *Front. Microbiol.* 6:871.

Figueras, M. J. (2005). Clinical relevance of *Aeromonas* sM503. *Reviews in Medical Microbiology*, 16(4), 145-153.

Franco, J., Lara, E., Villa, N., Mota, L., Hernández, J., & Serralta, L. (2015). *Aeromonas hydrophila* en alimentos marinos de origen animal de establecimientos de Puerto Ángel, Oaxaca, México. *REVISTA SALUD QUINTANA ROO*, 9(33), 4-10.

Franklin, M. J., Nivens, D. E., Weadge, J. T., & Howell, P. L. (2011). Biosynthesis of the *Pseudomonas aeruginosa* Extracellular Polysaccharides, Alginate, Pel, and Psl. *Frontiers in Microbiology*, 2, 1–16.

Gao, J., Xi, B., Chen, K., Song, R., Qin, T., Xie, J., & Pan, L. (2018). The stress hormone norepinephrine increases the growth and virulence of *Aeromonas hydrophila*. *MicrobiologyOpen*, 8(4), e00664.

García-Valdés, E., & Lalucat, J. (2016). *Pseudomonas*: Molecular Phylogeny and Current Taxonomy. *Pseudomonas: Molecular and Applied Biology*, 1-23.

Ghafoor, A., Jordens, Z., & Rehm, B. H. A. (2013). Role of PelF in Pel Polysaccharide Biosynthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(9), 2968-2978.

Gómez, C., Leal, A., Perez, M. J., & Navarrete, M. (2005). MECANISMOS DE RESISTENCIA EN PSEUDOMONAS AERUGINOSA: ENTENDIENDO A UN PELIGROSO ENEMIGO. *Rev Fac Med Univ Nac Colomb*, 53(1), 27-34.

González L., Carmen D., Castillo D., Carla P., Angiolillo R., Fernández S., David J. & Rojas A. (2016). Herramientas bioinformáticas para el análisis de secuencias en el Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”. *Revista del Instituto Nacional Rafael Rangel*, 47 (1-2), 143-149.

González-Vázquez, M. C., Rocha-Gracia, R. C., Carabarán-Lima, A., Bello-López, E., Huerta-Romano, F., Martínez-Laguna, Y., & Lozano-Zarain, P. (2021). Location of OprD porin in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *APMIS*, 1-12.

Grim, C. J., Kozlova, E. V., Sha, J., Fitts, E. C., van Lier, C. J., Kirtley, M. L., Joseph, S. J., Read, T. D., Burd, E. M., Tall, B. D., Joseph, S. W., Horneman, A. J., Chopra, A. K., & Shak, J. R. (2013). Characterization of *Aeromonas hydrophila* Wound Pathotypes by Comparative Genomic and Functional Analyses of Virulence Genes. *mBio*, 4(2), 1.

Gross, H., & Loper, J. E. (2009). Genomics of secondary metabolite production by *Pseudomonas* spp. *Natural Product Reports*, 26(11), 1408.

Gulati, A., Rahi, P., & Vyas, P. (2007). Characterization of Phosphate-Solubilizing Fluorescent *Pseudomonads* from the Rhizosphere of Seabuckthorn Growing in the Cold Deserts of Himalayas. *Current Microbiology*, 56(1), 73-79.

Gus, P. I., Melamed, J., Barth, A., Sudhaus, B. D., Quinto, G., Matos, G. H., & Bayer, M. C. (2006). Aderência in vitro do *Staphylococcus epidermidis* e da *Pseudomonas alcaligenes* em lentes intra-oculares. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*, 69(3), 327-331

Hachicho, N., Hoffmann, P., Ahlert, K., & Heipieper, H. J. (2014). Effect of silver nanoparticles and silver ions on growth and adaptive response mechanisms of *Pseudomonas putida* mt-2. *FEMS Microbiology Letters*, 355(1), 71-77.

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.

Hayes, S. L., Lye, D. J., McKinstry, C. A., & Vesper, S. J. (2010). *Aeromonas caviae* strain induces Th1 cytokine response in mouse intestinal tract. *Canadian Journal of Microbiology*, 56(1), 27-31.

Henry, D., & Speert, D. (2011). *Pseudomonas*. *BACTERIOLOGY*, 677-691.

Hoel, S., Vadstein, O., & Jakobsen, A. (2017). Species Distribution and Prevalence of Putative Virulence Factors in Mesophilic *Aeromonas* spp. Isolated from Fresh Retail Sushi. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1.

Hoel, S., Vadstein, O., & Jakobsen, A. (2019). The Significance of Mesophilic *Aeromonas* spp. in Minimally Processed Ready-to-Eat Seafood. *Microorganisms*, 7(3), 91.

Hossain, Z. (2014). Bacteria: *Pseudomonas*. *Encyclopedia of Food Safety*, 1, 490-500.

Hu, Y.-, Dang, W., & Sun, L. (2012). A TonB-dependent outer membrane receptor of *Pseudomonas fluorescens*: virulence and vaccine potential. *Archives of Microbiology*, 194(9), 795-802.

Hu, Y.-, Liu, C.-, Hou, J.-, & Sun, L. (2009). Identification, Characterization, and Molecular Application of a Virulence-Associated Autotransporter from a Pathogenic *Pseudomonas fluorescens* Strain. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(13), 4333-4340.

Huddleston, J. R., Brokaw, J. M., Zak, J. C., & Jeter, R. M. (2013). Natural transformation as a mechanism of horizontal gene transfer among environmental *Aeromonas* species. *Systematic and Applied Microbiology*, 36(4), 224-234.

Huys, G. (2002). *Aeromonas hydrophila* subsp. *dhakensis* subsp. nov., isolated from children with diarrhoea in Bangladesh, and extended description of *Aeromonas hydrophila* subsp. *hydrophila* (Chester 1901) Stanier 1943 (Approved Lists 1980). *INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY*, 52(3), 705-712.

Igbinosa, I. H., Igumbor, E. U., Aghdasi, F., Tom, M., & Okoh, A. I. (2012). Emerging *Aeromonas* Species Infections and Their Significance in Public Health. *The Scientific World Journal*, 2012, 1-13.

Jałowiecki, Ł., Płaza, G. ż., & Nowrotek, M. (2020). Whole-Genome Sequences of Antibiotic-Resistant *Aeromonas caviae* Strains Isolated from Treated Wastewater. *Microbiology Resource Announcements*, 9(40), 1-2.

Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2010). The Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Pathogenicity, and Infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(1), 35-73.

Janda, J. M., Guthertz, L. S., Kokka, R. P., & Shimada, T. (1994). *Aeromonas* Species in Septicemia: Laboratory Characteristics and Clinical Observations. *Clinical Infectious Diseases*, 19(1), 77-83.

Jayaprada, T., Hu, J., Zhang, Y., Feng, H., Shen, D., Geekiyanage, S., Yao, Y., & Wang, M. (2020). The interference of nonylphenol with bacterial cell-to-cell communication. *Environmental Pollution*, 257, 113352.

Jennings, L. K., Storek, K. M., Ledvina, H. E., Coulon, C., Marmont, L. S., Sadovskaya, I., Secor, P. R., Tseng, B. S., Scian, M., Filloux, A., Wozniak, D. J., Howell, P. L., & Parsek, M. R. (2015). Pel is a cationic exopolysaccharide that cross-links extracellular DNA in the *Pseudomonas aeruginosa* biofilm matrix. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(36), 11353–11358.

Ji, Y., Li, J., Qin, Z., Li, A., Gu, Z., Liu, X., Lin, L., & Zhou, Y. (2015). Contribution of nuclease to the pathogenesis of *Aeromonas hydrophila*. *Virulence*, 6(5), 515-522.

Jones C, Allsopp L, Horlick J, Kulasekara H, Filloux A (2013) Subinhibitory Concentration of Kanamycin Induces the *Pseudomonas aeruginosa* type VI Secretion System. *PLoS ONE* 8(11): e81132.

Jones, C. J., & Wozniak, D. J. (2017). Psl Produced by Mucoid *Pseudomonas aeruginosa* Contributes to the Establishment of Biofilms and Immune Evasion. *mBio*, 8(3), 1-14.

Khajanchi, B. K., Fadl, A. A., Borchardt, M. A., Berg, R. L., Horneman, A. J., Stemper, M. E., Joseph, S. W., Moyer, N. P., Sha, J., & Chopra, A. K. (2010). Distribution of Virulence Factors and Molecular Fingerprinting of *Aeromonas* Species Isolates from Water and Clinical Samples: Suggestive Evidence of Water-to-Human Transmission. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(7), 2313-2325.

Khan AH, Anees M, Arshad M, Muhammad YS, Iqbal M, Yousaf S. (2016). Effects of illuminance and nutrients on bacterial photo-physiology of hydrocarbon degradation. *Sci Total. Environ*;557–558:705–11.

Khatua, B., Vleet, J. V., Choudhury, B. P., Chaudhry, R., & Mandal, C. (2014). Sialylation of Outer Membrane Porin Protein D: A Mechanistic Basis of Antibiotic Uptake in *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecular & Cellular Proteomics*, 13(6), 1412-1428.

Kimura, M., Araoka, H., & Yoneyama, A. (2012). *Aeromonas caviae* is the most frequent pathogen amongst cases of *Aeromonas* bacteremia in Japan. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 45(4), 304-309.

King, J. D., Kocíncová, D., Westman, E. L., & Lam, J. S. (2009). Review: Lipopolysaccharide biosynthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. *Innate Immunity*, 15(5), 261-312.

Kintz, E., & Goldberg, J. (2008). Regulation of lipopolysaccharide O antigen expression in *Pseudomonas aeruginosa*. *Future Microbiology*, 3(2), 191-203.

Kirov, S. M., Castrisios, M., & Shaw, J. G. (2004). *Aeromonas* Flagella (Polar and Lateral) Are Enterocyte Adhesins That Contribute to Biofilm Formation on Surfaces. *Infection and Immunity*, 72(4), 1939–1945.

Kowalska, K., Soscia, C., Combe, H., Vasseur, P., Voulhoux, R., & Filloux, A. (2010). The C-terminal amphipathic α -helix of *Pseudomonas aeruginosa* PelC outer membrane protein is required for its function. *Biochimie*, 92(1), 33–40.

Lee, J., & Zhang, L. (2014). The hierarchy quorum sensing network in *Pseudomonas aeruginosa*. *Protein & Cell*, 6(1), 26-41.

Li, H., Luo, Y.-F., Williams, B. J., Blackwell, T. S., & Xie, C.-M. (2012). Structure and function of OprD protein in *Pseudomonas aeruginosa*: From antibiotic resistance to novel therapies. *International Journal of Medical Microbiology*, 302(2), 63-68.

Li, T., Raza, S. H. A., Yang, B., Sun, Y., Wang, G., Sun, W., Qian, A., Wang, C., Kang, Y., & Shan, X. (2020). *Aeromonas veronii* Infection in Commercial Freshwater Fish: A Potential Threat to Public Health. *Animals*, 10(4), 608.

Liu, X., Shen, B., Du, P., Wang, N., Wang, J., Li, J., & Sun, A. (2017). Transcriptomic analysis of the response of *Pseudomonas fluorescens* to epigallocatechin gallate by RNA-seq. *PLOS ONE*, 12(5), e0177938.

Loper, J. E., Hassan, K. A., Mavrodi, D. V., Davis, E. W., Lim, C. K., Shaffer, B. T., Elbourne, L. D. H., Stockwell, V. O., Hartney, S. L., Breakwell, K., Henkels, M. D., Tetu, S. G., Rangel, L. I., Kidarsa, T. A., Wilson, N. L., van de Mortel, J. E., Song, C., Blumhagen, R., Radune, D., ... Paulsen, I. T. (2012). Comparative Genomics of Plant-Associated *Pseudomonas* spp.: Insights into Diversity and Inheritance of Traits Involved in Multitrophic Interactions. *PLoS Genetics*, 8(7), e1002784.

Lowry, R. C., Parker, J. L., Kumbhar, R., Mesnage, S., Shaw, J. G., & Stafford, G. P. (2014). The *Aeromonas caviae* AHA0618 gene modulates cell length and influences swimming and swarming motility. *MicrobiologyOpen*, 4(2), 220-234.

Lu, L., Hu, W., Tian, Z., Yuan, D., Yi, G., Zhou, Y., Cheng, Q., Zhu, J., & Li, M. (2019). Developing natural products as potential anti-biofilm agents. *Chinese Medicine*, 14(1), 1-17.

Luján, G., García-de-la-Guarda, R., & Gonzales-Escalante, E. (2018). Caracterización de metalo- β -lactamasas en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* recuperados de pacientes hospitalizados en el Hospital Militar Central. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 35(4), 636.

Lyczak, J. B., Cannon, C. L., & Pier, G. B. (2000). Establishment of *Pseudomonas aeruginosa* infection: lessons from a versatile opportunist. *Microbes and Infection*, 2(9), 1051-1060.

Madi, A., Lakhdari, O., Blottière, H. M., Guyard-Nicodème, M., Le Roux, K., Groboillot, A., Svinareff, P., Doré, J., Orange, N., Feuilloley, M. G. J., & Connil, N.

(2010). The clinical *Pseudomonas fluorescens* MFN1032 strain exerts a cytotoxic effect on epithelial intestinal cells and induces Interleukin-8 via the AP-1 signaling pathway. *BMC Microbiology*, 10(1), 215.

Mandal, J., Dhodapkar, R., Acharya, N. S., Sastry, A., & Parija, S. C. (2010). Urinary tract infection due to *Aeromonas* spp., a lesser known causative bacterium. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 4(10), 679-681.

Marmont, L. S., Whitfield, G. B., Pfoh, R., Williams, R. J., Randall, T. E., Ostaszewski, A., Razvi, E., Groves, R. A., Robinson, H., Nitz, M., Parsek, M. R., Lewis, I. A., Whitney, J. C., Harrison, J. J., & Howell, P. L. (2020). PelX is a UDP-N-acetylglucosamine C4-epimerase involved in Pel polysaccharide-dependent biofilm formation. *Journal of Biological Chemistry*, 295(34), 11949-11962.

Marmont, L. S., Whitfield, G. B., Rich, J. D., Yip, P., Giesbrecht, L. B., Stremick, C. A., Whitney, J. C., Parsek, M. R., Harrison, J. J., & Howell, P. L. (2017). PelA and PelB proteins form a modification and secretion complex essential for Pel polysaccharide-dependent biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Biological Chemistry*, 292(47), 19411-19422.

Mielko, K. A., Jabłoński, S. I. J., Milczewska, J., Sands, D., Łukaszewicz, M., & Młynarz, P. (2019). Metabolomic studies of *Pseudomonas aeruginosa*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35(11), 2-11.

Moore, E. R. B., Mau, M., Arnscheidt, A., Böttger, E. C., Hutson, R. A., Collins, M. D., Van De Peer, Y., De Wachter, R., & Timmis, K. N. (1996). The Determination and Comparison of the 16S rRNA Gene Sequences of Species of the Genus *Pseudomonas* (sensu stricto and Estimation of the Natural Intrageneric Relationships. *Systematic and Applied Microbiology*, 19(4), 478-492.

Moore, E. R. B., Tindall, B. J., Martins Dos Santos, V. A. P., Pieper, D. H., Ramos, J.-L., & Palleroni, N. J. (2006). Nonmedical: *Pseudomonas*. *The Prokaryotes*, 646-703.

Moradali, M. F., Ghods, S., & Rehm, B. H. A. (2017). *Pseudomonas aeruginosa* Lifestyle: A Paradigm for Adaptation, Survival, and Persistence. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7 (11), 1-29.

Mukherjee, S., & Bassler, B. L. (2019). Bacterial quorum sensing in complex and dynamically changing environments. *Nature Reviews Microbiology*, 17(6), 371-382.

Mulet, M., Lalucat, J., & García-Valdés, E. (2010). DNA sequence-based analysis of the *Pseudomonas* species. *Environmental Microbiology*, 1513-1530.

Muller, H., Zachow, C., Alavi, M., Tilcher, R., Krempl, P. M., Thallinger, G. G., & Berg, G. (2013). Complete Genome Sequence of the Sugar Beet Endophyte

Pseudomonas poae RE*1-1-14, a Disease-Suppressive Bacterium. *Genome Announcements*, 1(2), 1-2.

National Center for Biotechnology Information. (2021). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/search/>

National Center for Biotechnology Information. (2021). Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). Disponible en: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

Nagar, V., & Bandekar, J. R. (2011). Effectiveness of radiation processing in elimination of *Aeromonas* from food. *Radiation Physics and Chemistry*, 80(8), 911-916.

Nagar, V., Shashidhar, R., & Bandekar, J. R. (2011). Prevalence, Characterization, and Antimicrobial Resistance of *Aeromonas* Strains from Various Retail Food Products in Mumbai, India. *Journal of Food Science*, 76(7), M486-M492.

Newman, J. W., Floyd, R. V., & Fothergill, J. L. (2017). The contribution of *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors and host factors in the establishment of urinary tract infections. *FEMS Microbiology Letters*, 364(15), 1-20.

Nowrotek, M., Jałowiecki, Ł., & Płaza, G. ż. (2020). Fluoroquinolone Resistance and Virulence Properties Among Wastewater *Aeromonas caviae* Isolates. *Microbial Drug Resistance*, 1.

Ortega Balleza, J., Sánchez-Varela, A., Rodríguez-Luna, I. C., & Guo, X. (2018). Genes de virulencia en *Aeromonas* spp. (Aeromonadales: Aeromonadaceae) aisladas de *Oreochromis* spp. (Perciformes: Cichlidae) para consumo humano en México. *Revista de Biología Tropical*, 66(4), 1.

Organización Mundial de la Salud. (2021). Resistencia a los antibióticos. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibi%C3%B3ticos>

Overhage, J., Schemionek, M., Webb, J. S., & Rehm, B. H. A. (2005). Expression of the *psl* Operon in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 Biofilms: PslA Performs an Essential Function in Biofilm Formation. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(8), 4407-4413.

Pablos, M., Huys, G., Cnockaert, M., Rodríguez-Calleja, J. M., Otero, A., Santos, J. A., & García-López, M. L. (2011). Identification and epidemiological relationships of *Aeromonas* isolates from patients with diarrhea, drinking water and foods. *International Journal of Food Microbiology*, 147(3), 203-210.

Palleroni, N. J., Doudoroff, M., Stanier, R. Y., Solanes, R. E., & Mandel, M. (1970). Taxonomy of the Aerobic Pseudomonads: the Properties of the Pseudomonas stutzeri Group. *Journal of General Microbiology*, 60(2), 215-231.

Palleroni, N. J., Kunisawa, R., Contopoulou, R., & Doudoroff, M. (1973). Nucleic Acid Homologies in the Genus Pseudomonas. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 23(4), 333-339.

Palleroni, N. J. (2015). Pseudomonas. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1.

Panayidou, S., Georgiades, K., Christofi, T., Tamana, S., Promponas, V. J., & Apidianakis, Y. (2020). Pseudomonas aeruginosa core metabolism exerts a widespread growth-independent control on virulence. *Scientific Reports*, 10(1), 1-19.

Pang, M., Jiang, J., Xie, X., Wu, Y., Dong, Y., Kwok, A. H. Y., Zhang, W., Yao, H., Lu, C., Leung, F. C., & Liu, Y. (2015). Novel insights into the pathogenicity of epidemic Aeromonas hydrophila ST251 clones from comparative genomics. *Scientific Reports*, 5(1), 1-15.

Parker, J. L., Day-Williams, M. J., Tomas, J. M., Stafford, G. P., & Shaw, J. G. (2012). Identification of a putative glycosyltransferase responsible for the transfer of pseudaminic acid onto the polar flagellin of Aeromonas caviae Sch3N. *MicrobiologyOpen*, 1(2), 149-160.

Parker, J. L., & Shaw, J. G. (2011). Aeromonas spp. clinical microbiology and disease. *Journal of Infection*, 62(2), 109-118.

Peix, A., Ramírez-Bahena, M.-H., & Velázquez, E. (2018). The current status on the taxonomy of Pseudomonas revisited: An update. *Infection, Genetics and Evolution*, 57, 106-116.

Pedersen, M. M., Marso, E., & Pickett, M. J. (1970). Nonfermentative Bacilli Associated with Man: III. Pathogenicity and Antibiotic Susceptibility. *American Journal of Clinical Pathology*, 54(2), 178-192.

Picot, L., Mezghani-Abdelmoula, S., Chevalier, S., Merieau, A., Lesouhaitier, O., Guerillon, J., Cazin, L., Orange, N., & Feuilloley, M. G. J. (2004). Regulation of the cytotoxic effects of Pseudomonas fluorescens by growth temperature. *Research in Microbiology*, 155(1), 39-46.

Poole, K. (2011). Pseudomonas Aeruginosa: Resistance to the Max. *Frontiers in Microbiology*, 2, 1-13.

Public Health England. (2015). Identification of *Pseudomonas* species and other Non-Glucose Fermenters. *UK Standards for Microbiology Investigations*, 1-41.

Rahman, M., Colque-Navarro, P., KÃhn, I., Huys, G., Swings, J., & Mollby R. (2002). Identification and Characterization of Pathogenic *Aeromonas veronii* Biovar Sobria Associated with Epizootic Ulcerative Syndrome in Fish in Bangladesh. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(2), 650-655.

Ran, C., Qin, C., Xie, M., Zhang, J., Li, J., Xie, Y., Wang, Y., Li, S., Liu, L., Fu, X., Lin, Q., Li, N., Liles, M. R., & Zhou, Z. (2018). *Aeromonas veronii* and aerolysin are important for the pathogenesis of motile aeromonad septicemia in cyprinid fish. *Environmental Microbiology*, 20(9), 3442-3456.

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, 1-10.

Rehm, B. H. A. (2008). *Pseudomonas: Model Organism, Pathogen, Cell Factory*. Blackwell Pub.

Rinc3n, G., Fuenmayor, A., Castellano, M., Barrios, R., Colina, M., & Nuñez, G. (2016). Factores de Virulencia en Cepas de *Aeromonas* spp. *Kasmera*, 43(2), 121-133.

Riveros-Rosas, H., Julián-Sánchez, A., Moreno-Hagelsieb, G., & Muñoz-Clares, R. A. (2019). Aldehyde dehydrogenase diversity in bacteria of the *Pseudomonas* genus. *Chemico-Biological Interactions*, 304, 83-87.

Robertson, D. (2008). The clinical and cellular basis of contact lens-related corneal infections. *Clinical Ophthalmology*, 907.

Rossignol, G., Merieau, A., Guerillon, J., Veron, W., Lesouhaitier, O., Feuilleley, M. G. J., & Orange, N. (2008). Involvement of a phospholipase C in the hemolytic activity of a clinical strain of *Pseudomonas fluorescens*. *BMC Microbiology*, 8(1), 189.

Russotto, V., Cortegiani, A., Raineri, S. M., & Giarratano, A. (2015). Bacterial contamination of inanimate surfaces and equipment in the intensive care unit. *Journal of Intensive Care*, 3(1), 1-8.

Sawada, H., Horita, H., Nishimura, F., & Mori, M. (2020). *Pseudomonas salomonii*, another causal agent of garlic spring rot in Japan. *Journal of General Plant Pathology*, 86(3), 180-192.

Scales, B. S., Dickson, R. P., LiPuma, J. J., & Huffnagle, G. B. (2014). Microbiology, Genomics, and Clinical Significance of the *Pseudomonas fluorescens* Species

Complex, an Unappreciated Colonizer of Humans. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(4), 927-948.

Schiavano, G. F., Carloni, E., Andreoni, F., Magi, S., Chironna, M., Brandi, G., & Amagliani, G. (2017). Prevalence and antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* in water samples in central Italy and molecular characterization of oprD in imipenem resistant isolates. *PLOS ONE*, 12(12), e0189172.

Seike S, Kobayashi H, Ueda M, Takahashi E, Okamoto K and Yamanaka H. (2021) Outer Membrane Vesicles Released From *Aeromonas* Strains Are Involved in the Biofilm Formation. *Front. Microbiol.* 11:613650

Sha, J., Rosenzweig, J. A., Kozlova, E. V., Wang, S., Erova, T. E., Kirtley, M. L., van Lier, C. J., & Chopra, A. K. (2013). Evaluation of the roles played by Hcp and VgrG type 6 secretion system effectors in *Aeromonas hydrophila* SSU pathogenesis. *Microbiology*, 159(Pt_6), 1120-1135.

Shibata, S., and Visick, K. L. (2012). Sensor kinase RscS induces the production of antigenically distinct outer membrane vesicles that depend on the symbiosis polysaccharide locus in *Vibrio fischeri*. *J. Bacteriol.* 194, 185–194.

Silby, M. W., Winstanley, C., Godfrey, S. A. C., Levy, S. B., & Jackson, R. W. (2011). *Pseudomonas* genomes: diverse and adaptable. *FEMS Microbiology Reviews*, 35(4), 652-680.

Silver, A. C., Williams, D., Faucher, J., Horneman, A. J., Gogarten, J. P., & Graf, J. (2011). Complex Evolutionary History of the *Aeromonas veronii* Group Revealed by Host Interaction and DNA Sequence Data. *PLoS ONE*, 6(2), e16751.

Skariyachan, S., Sridhar, V. S., Packirisamy, S., Kumargowda, S. T., & Challapilli, S. B. (2018). Recent perspectives on the molecular basis of biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* and approaches for treatment and biofilm dispersal. *Folia Microbiologica*, 63(4), 413-432.

Smyrli, M., Triga, A., Dourala, N., Varvarigos, P., Pavlidis, M., Quoc, V. H., & Katharios, P. (2019). Comparative Study on A Novel Pathogen of European Seabass. Diversity of *Aeromonas veronii* in the Aegean Sea. *Microorganisms*, 7(11), 504.

Sokatch, J. R., & Sokatch, J. (2012). *The Biology of Pseudomonas (English Edition)*. Academic Press.

Solano, C., Echeverz, M., & Lasa, I. (2014). Biofilm dispersion and quorum sensing. *Current Opinion in Microbiology*, 18, 96-104.

Stratev, D., & Odeyemi, O. A. (2016). Antimicrobial resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from different food sources: A mini-review. *Journal of Infection and Public Health*, 9(5), 535-544.

Suresh, M., Skariyachan, S., Narayanan, N., Pullampara Rajamma, J., & Panickassery Ramakrishnan, M. K. (2020). Mutational Variation Analysis of oprD Porin Gene in Multidrug-Resistant Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbial Drug Resistance*, 26(8), 869-879.

Sun, J., Zhang, X., Gao, X., Jiang, Q., Wen, Y., & Lin, L. (2016). Characterization of Virulence Properties of *Aeromonas veronii* Isolated from Diseased Gibel Carp (*Carassius gibelio*). *International Journal of Molecular Sciences*, 17(4), 496.

Sun, Y., & Sun, L. (2015). *Pseudomonas fluorescens*: Iron-responsive proteins and their involvement in host infection. *Veterinary Microbiology*, 176(3-4), 309-320.

Suzuki, M., Suzuki, S., Matsui, M., Hiraki, Y., Kawano, F., & Shibayama, K. (2013). A subclass B3 metallo-β-lactamase found in *Pseudomonas alcaligenes*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(5), 1430-1432.

Takeuchi, H., Namba, A., Hori, K., Kashiwada, S., & Mano, N. (2018). *Aeromonas veronii* biovar *sobria* Associated with Mortalities of Riverine Ayu *Plecoglossus altivelis* in the Tama River. *Fish Pathology*, 53(2), 86-89.

Talagrand-Reboul, E., Jumas-Bilak, E., & Lamy, B. (2017). The Social Life of *Aeromonas* through Biofilm and Quorum Sensing Systems. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1-19.

Tekorienė, R. ū. (2008). Distribution of the genus *Pseudomonas* bacteria in oil-polluted soil, water, polymeric materials, plant remnants and food products. *Ekologija*, 54(3), 143-148.

Tena, D., González-Praetorius, A., Gimeno, C., Teresa Pérez-Pomata, M., & Bisquert, J. (2007). Infección extraintestinal por *Aeromonas* spp.: revisión de 38 casos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 25(4), 235-241.

Thi, M. T. T., Wibowo, D., & Rehm, B. H. A. (2020). *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), 8671.

Tomás, J. M. (2012). The Main *Aeromonas* Pathogenic Factors. *ISRN Microbiology*, 2012, 1-22.

Turska, A., Duda, K., Schwudke, D., Pekala, A., Kozinska, A., & Holst, O. (2014). Structural Studies of the Lipopolysaccharide from the Fish Pathogen *Aeromonas veronii* Strain Bs19, Serotype O16. *Marine Drugs*, 12(3), 1298-1316.

UniProt. (2021). Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). Disponible en: <https://www.uniprot.org/blast/>

Vadakkan, K., Choudhury, A. A., Gunasekaran, R., Hemapriya, J., & Vijayanand, S. (2018). Quorum sensing intervened bacterial signaling: Pursuit of its cognizance and repression. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(2), 239-252.

Valenstein, P., Bardy, G. H., Cox, C. C., & Zwadyk, P. (1983b). *Pseudomonas Alcaligenes Endocarditis*. *American Journal of Clinical Pathology*, 79(2), 245-247.

Valentini, M., Gonzalez, D., Mavridou, D. A. I., & Filloux, A. (2018). Lifestyle transitions and adaptive pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa*. *Current Opinion in Microbiology*, 41, 15-20.

Varela, A., Rodríguez I. & Guo, X. (2017). Review Of The Characterization Of *Aeromonas* Spp. And Its Clinical Importance. *Revista Boliviana De Química*, 34(5), 132-137.

Vasseur, P., Vallet-Gely, I., Soscia, C., Genin, S., & Filloux, A. (2005). The *pel* genes of the *Pseudomonas aeruginosa* PAK strain are involved at early and late stages of biofilm formation. *Microbiology*, 151, 985–997.

Vignoli, R., & Seija, V. (2006). *Temas de bacteriología y virología médica* (3ra. Edición ed.). FACULTAD DE MEDICINA. INSTITUTO DE HIGIENE : OFICINA DEL LIBRO-FEFMUR , 2006.

Vyas, P., Rahi, P., & Gulati, A. (2009). Stress Tolerance and Genetic Variability of Phosphate-solubilizing Fluorescent *Pseudomonas* from the Cold Deserts of the Trans-Himalayas. *Microbial Ecology*, 58(2), 425-434.

Wang, H.-, Hu, Y.-, Zhang, W.-, & Sun, L. (2009). Construction of an attenuated *Pseudomonas fluorescens* strain and evaluation of its potential as a cross-protective vaccine. *Vaccine*, 27(30), 4047-4055.

Winstanley, C., & Rumbaugh, K. P. (2018). Editorial: complexity and adaptability: an introduction to the special thematic issue on the genus *Pseudomonas*. *FEMS Microbiology Letters*, 365(18), 1-3.

Wisplinghoff, H., & Seifert, H. (2017). *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. and miscellaneous Gram-negative bacilli. *Infectious Diseases*, 1704-1727.

Woo, K.-S., Choi, J.-L., Kim, B.-R., Kim, J.-E., Kim, K.-H., Kim, J.-M., & Han, J.-Y. (2014). Outbreak of *Pseudomonas Oryzihabitans* Pseudobacteremia Related to Contaminated Equipment in an Emergency Room of a Tertiary Hospital in Korea. *Infection & Chemotherapy*, 46(1), 42.

Woodring, T. S., & Farrell, J. J. (2019). *Pseudomonas poae*–Associated Fatal Septic Transfusion Reaction, Peoria, Illinois, USA, 2017. *Emerging Infectious Diseases*, 25(8), 1445-1451

Wu, C.-J., Chen, P.-L., Hsueh, P.-R., Chang, M.-C., Tsai, P.-J., Shih, H.-I., Wang, H.-C., Chou, P.-H., & Ko, W.-C. (2015). Clinical Implications of Species Identification in Monomicrobial *Aeromonas* Bacteremia. *PLOS ONE*, 10(2), e0117821.

Xu, Y., Zheng, X., Zeng, W., Chen, T., Liao, W., Qian, J., Lin, J., Zhou, C., Tian, X., Cao, J., & Zhou, T. (2020). Mechanisms of Heteroresistance and Resistance to Imipenem in *Pseudomonas aeruginosa*. *Infection and Drug Resistance*, Volume 13, 1419-1428.

Yang, B., Song, H., An, D., Zhang, D., Raza, S. H. A., Wang, G., Shan, X., Qian, A., Kang, Y., & Wang, C. (2019). Functional Analysis of *preA* in *Aeromonas veronii* TH0426 Reveals a Key Role in the Regulation of Virulence and Resistance to Oxidative Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(1), 98.

Yayan, J., Ghebremedhin, B., & Rasche, K. (2015). Antibiotic Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* in Pneumonia at a Single University Hospital Center in Germany over a 10-Year Period. *PLOS ONE*, 10(10), e0139836.

Yonezawa, H., Osaki, T., Kurata, S., Fukuda, M., Kawakami, H., Ochiai, K., et al. (2009). Outer membrane vesicles of *helicobacter pylori* TK1402 are involved in biofilm formation. *BMC Microbiol.* 9:197.

Zhang, L., Yu, W., Tang, Y., Li, H., Ma, X., & Liu, Z. (2019). RNA chaperone *hfq* mediates persistence to multiple antibiotics in *Aeromonas veronii*. *Microbial Pathogenesis*, 132, 124-128.

Zhang, X., Cai, W., Tao, Z., & Arias, C. R. (2014). Survival of Fish-Pathogenic Strains of *Aeromonas hydrophila* under Starvation. *Journal of Aquatic Animal Health*, 26(3), 190-193.

Zhao, X., Yu, Z., & Ding, T. (2020). Quorum-Sensing Regulation of Antimicrobial Resistance in Bacteria. *Microorganisms*, 8(3), 425, 1-21.

Zhu, M., Wang, X. R., Li, J., Li, G. Y., Liu, Z. P., & Mo, Z. L. (2015). Identification and virulence properties of *Aeromonas veronii* bv. *sobria* isolates causing an ulcerative syndrome of loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Journal of Fish Diseases*, 39(6), 777-781.

