

Enfermedades Infecciosas y Microbiología

Volumen **22**
Volume

Número **4**
Number




Octubre-Diciembre **2002**
October-December

Artículo:




El género *Aeromonas*. ¿Un patógeno importante en México?

Derechos reservados, Copyright © 2002:
Asociación Mexicana de Infectología y Microbiología Clínica, AC

**Otras secciones de
este sitio:**

-  **Índice de este número**
-  **Más revistas**
-  **Búsqueda**

***Others sections in
this web site:***

-  ***Contents of this number***
-  ***More journals***
-  ***Search***



Medigraphic.com

El género *Aeromonas*. ¿Un patógeno importante en México?

GRACIELA CASTRO-ESCARPULLI,*,** MA. GUADALUPE AGUILERA-ARREOLA,*** SILVIA GIONO CEREZO,***
CÉSAR HUGO HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ,*** MATILDE RODRÍGUEZ CHACÓN,*** LARA SOLER FALGÁS,*** GERARDO
APARICIO OZORES,*** MARÍA JOSÉ FIGUERAS SALVAT***

RESUMEN

El género *Aeromonas* se ha reconocido desde 1891 como agente etiológico de enfermedades de varias especies de peces y ocasionalmente de mamíferos, reptiles, anfibios y pájaros. Recientemente algunas de las especies han emergido como un problema de salud pública para la población humana provocando infecciones intestinales y extra-intestinales que incluyen bacteriemia. Tomando en consideración que en algunos países estos microorganismos se encuentran entre las principales causas de diarrea, es oportuno dar a conocer la importancia de estos microorganismos y referenciar los estudios realizados en México. Los mecanismos de patogenicidad en las infecciones causadas por especies de este género no se han establecido con exactitud, sin embargo, se han identificado un gran número de estructuras y enzimas extracelulares considerados factores de virulencia de *Aeromonas*. Esta revisión ofrece un panorama de las principales características de este género, así como de los avances que se han producido en el conocimiento de estos microorganismos. La incidencia de infecciones producidas por cepas de este género está probablemente subestimada en México, ya que estos microorganismos sólo se investigan de forma rutinaria en algunos laboratorios clínicos, por lo que nuestro grupo de trabajo recomienda a todos los laboratorios que realicen las pruebas necesarias para aislar e identificar estos microorganismos para así poder establecer la importancia de *Aeromonas* como patógeno humano en nuestro país.

Palabras clave: *Aeromonas*, patógeno, identificación.

ABSTRACT

The genus *Aeromonas* has been recognized since 1891 as an etiological agent of infections in several species of fish and occasionally in mammals, reptiles, amphibians and birds. Recently, some of the species have emerged as a public health problem for the human population, causing intestinal and extra-intestinal infections, including bacteriemia. Considering that in some countries these microorganisms are among the main causes of diarrhea, it is timely to review the importance of *Aeromonas* and to index the studies carried out in Mexico. The pathogenicity mechanisms in the infections produced by species of this genus are not fully defined, but several structures and extracellular enzymes have been identified and considered virulence factors of *Aeromonas*. This review discusses the main characteristics of the *Aeromonas* spp. and presents recent advances in the knowledge of these microorganisms. The incidence of infections produced by strains of this genus is probably underestimated since in Mexico these microorganisms have only been investigated routinely in few laboratories. For this reason our work group recommends that clinical laboratories carry out the necessary tests to isolate and identify these microorganisms in order to establish the importance of *Aeromonas* as a human pathogen in our country.

Key words: *Aeromonas*, pathogens, identification.

* Departamento de Microbiología. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n, Plutarco Elías Calles, Santo Tomás. Del. Miguel Hidalgo. C.P 11340. México DF.

** Becario COFAA y EDD

*** Unitat de Microbiologia. Departament de Ciències Mèdiques Bàsiques, Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, Universitat Rovira i Virgili, San Llorenç 21; 43201 Reus España.

Correspondencia: Graciela Castro Escarpulli, Laboratorio de Bacteriología Médica, Departamento de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Prolongación de Carpio y Plan de Ayala S/N. Col. Plutarco Elías Calles 11340 México D.F. México.

Phone: 57296300 ext 62374. Fax : 57296207

E-mail: chelacastro@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas son uno de los principales problemas a los que se enfrentan los países en vías de desarrollo. En México, la población rebasa más de 90 millones de habitantes y las condiciones socioeconómicas del país favorecen que las enfermedades gastrointestinales sean un gran problema de salud pública. Éstas afectan especialmente a la población, infantil siendo la diarrea la manifestación más frecuente.¹ Las enfermedades diarreicas, muestran una variación estacional con un incremento en el número de casos en el periodo primavera-verano, reportándose desde 1998 por la Secretaría de Salud (SSA) cada año y hasta la fecha más de 5,500,000 casos anuales.² Los agentes etiológicos asociados a estas infecciones son: las bacterias, los parásitos y los virus, siendo los dos primeros grupos los principales agentes causales de estos procesos en México y en el mundo. En México, las bacterias más frecuentemente involucradas en las diarreas son: *Salmonella*, *Shigella*, algunos serotipos de *Escherichia coli* y *Campylobacter jejuni*.¹ El avance en las técnicas de aislamiento e identificación bacteriana ha permitido agregar a esta lista otros agentes, entre los que destacan el género *Aeromonas*, el cual ha adquirido importancia clínica al ser también capaz de producir infecciones de heridas e incluso infecciones respiratorias.^{3,4} En México, los estudios para determinar la incidencia de *Aeromonas* son escasos, destacando los realizados por Rebollo y Escamilla,⁵ estos investigadores aislaron *Aeromonas* con una frecuencia del 7.7% en casos de diarrea aguda en niños menores de 2 años y en un 7% en adultos, mientras que en estudios posteriores, realizados por ellos mismos en la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, demostraron que el 5.7% de los aislamientos que procedían de niños menores de 5 años con diarrea de larga evolución pertenecían a *Aeromonas*.^{5,6}

La prevalencia de las especies de *Aeromonas* en el ambiente, especialmente en el medio acuático y el incremento del espectro y el número de infecciones asociadas a este género en las últimas décadas ha generado un interés creciente para establecer el riesgo que representa para la salud pública. Esta revisión ofrece un panorama de las principales características del género así

como de los avances que se han producido en el conocimiento de estos microorganismos en los últimos años.

DESCRIPCIÓN DEL GÉNERO

El género *Aeromonas* está clasificado en el Manual de Bacteriología Determinativa de Bergey como miembro de la familia *Vibrionaceae*.⁷ Sin embargo, los estudios realizados en 1986 por Colwell y cols. demostraron, en base al análisis de las secuencias de los genes 16S rRNA y 5S rRNA y a los resultados de la hibridación DNA-RNA, que el género *Aeromonas* presenta una evolución filogenética distinta al de las familias *Enterobacteriaceae* y *Vibrionaceae* y propusieron elevar al género *Aeromonas* a la categoría de familia *Aeromonadaceae*⁸ y como tal aparece ya en publicaciones recientes.⁹⁻¹⁰

Las características del género refieren que son bacilos cortos 0.3-1.0 x 1.0-3.5 μm , Gram-negativos, todas las especies excepto *Aeromonas salmonicida* y *Aeromonas media* son móviles gracias a un flagelo polar, son aerobios facultativos, oxidasa y catalasa positivos, reducen nitrato a nitrito y fermentan la D-glucosa como fuente principal de carbono y energía. Pueden crecer en medios que contienen 3% de NaCl, pero no en 6%. Los miembros de este género producen varias exoenzimas como: proteasas, DNAsas, RNAsas, elastasas, lecitinasas, amilasas, gelatinasas y lipasas, entre otras, muchas de ellas consideradas factores de virulencia.⁹

La clasificación de las especies del género ha dependido de una mezcla compleja de datos fenotípicos y genéticos. Las especies bioquímicamente distintas se refieren como fenoespecies mientras que las especies genéticamente diferentes se denominan grupos de hibridación (HG) o genoespecies y se determinan mediante pruebas de hibridación de DNA total. Actualmente se tiende a nombrar sólo especies y abandonar la nomenclatura de HGs, derivada de los primeros estudios taxonómicos realizados para este género utilizando técnicas moleculares.⁹

Las *Aeromonas* se pueden dividir en dos grandes grupos en base a la temperatura óptima de crecimiento y la capacidad de movilidad de las especies. El primer grupo es amplio y heterogéneo genéticamente y

está formado por especies mesófilas y móviles que crecen óptimamente a 28°C. El segundo es un grupo más reducido y homogéneo genéticamente, se designa como el grupo psicrófilo cuya temperatura óptima de crecimiento se define entre 22-25°C, está constituido por una sola especie: *Aeromonas salmonicida* y de ésta se han reportado cinco subespecies: *A. salmonicida* ssp. *salmonicida*, *A. salmonicida* ssp. *masoucida*, *A. salmonicida* ssp. *achromogenes*, *A. salmonicida* ssp. *smithia* y *A. salmonicida* ssp. *pectinolytica*.¹¹ Nuestros estudios y los de otros autores ponen de manifiesto que es muy difícil separar bioquímicamente las subespecies de *A. salmonicida*.¹²

El género incluye en la actualidad a 14 especies (cuadro 1): *A. hydrophila*, *A. bestiarum*, *A. salmonicida*, *A. caviae*, *A. media*, *A. eucrenophila*, *A. sobria*, *A. veronii*, *A. jandaiei*, *A. encheleia*, *A. schubertii*, *A. trota*, *A. allosaccharophila* y *A. popoffii*.^{13,14} La especie *A. veronii* tiene dos biotipos *A. veronii* bt. *sobria* y *A. veronii* bt. *veronii*, siendo el primero el comúnmente asociado a cuadros diarreicos. Otras especies tales como *A. ichthiosmia* y *A. enteropelogenes* han sido consideradas en base

a los perfiles de ácidos grasos, fenotipo y secuenciación del gen 16S RNA como sinónimos de *A. veronii* y *A. trota* respectivamente.¹⁵ A pesar de que se ha avanzado mucho en la taxonomía del género existen todavía algunos problemas terminológicos y la posición de algunas especies está en discusión.^{13,14}

IDENTIFICACIÓN

Las diferentes especies de *Aeromonas* pueden crecer en los medios diferenciales y selectivos empleados para el aislamiento de las bacterias Gram negativas. Los medios selectivos de elección para su aislamiento son: agar sangre ampicilina ya que estas bacterias son resistentes a este antimicrobiano, a excepción de *A. trota*, o bien el agar que contiene cefsulodina-irgasan-novobiocina denominado comercialmente como CIN. Para el caso de muestras de alimentos de origen diverso se recomienda emplear un caldo de preenriquecimiento, siendo el agua peptonada alcalina de pH 8.7 la mejor elección, y posteriormente la siembra en agar bilis-irgasan-verde brillante (BIVB), el cual ha demos-

Cuadro 1. Genoespecies y fenoespecies que constituyen el género *Aeromonas*.^{13*}

Genoespecie	Fenoespecie	Grupo DNA ^a	Cepa tipo	Sinónimo
<i>A. hydrophila</i>	<i>A. hydrophila</i>	1	ATCC 7966 ^T	
<i>A. bestiarum</i>	<i>A. hydrophila</i>	2	ATCC51108 ^T	
<i>A. popoffii</i>		NA	LMG 17541 ^T	
<i>A. salmonicida</i>	<i>A. salmonicida</i>	3	ATCC 33658 ^T	
<i>A. caviae</i>	<i>A. caviae</i>	4	ATCC 15468 ^T	<i>A. punctata</i>
<i>A. media</i>	<i>A. caviae</i>	5	ATCC 33907 ^T	
<i>A. eucrenophila</i>	<i>A. caviae</i>	6	ATCC23309 ^T	<i>A. punctata</i>
<i>A. sobria</i>	<i>A. sobria</i>	7	ATCC43979 ^T	
<i>A. veronii</i> ^b	<i>A. sobria</i>	8	ATCC9071	<i>A. ichthiosmia</i>
<i>A. jandaiei</i>	<i>A. sobria</i>	9	ATCC 49568 ^T	
<i>A. veronii</i> ^b	<i>A. sobria</i>	10	ATCC35604 ^T	
<i>A. encheleia</i>	<i>A. caviae</i>	NA	ATCC 51929 ^T	
<i>A. schubertii</i>	<i>A. hydrophila</i>	12	ATCC 43700 ^T	
<i>A. trota</i>	<i>A. sobria</i>	NA	ATCC 49657 ^T	<i>A. enteropelogenes</i>
<i>A. allosaccharophila</i>	<i>Aeromonas</i> spp.	NA	ATCC51208 ^T	
<i>Aeromonas</i> grupo 501		NA	ATCC 43946	
<i>Aeromonas</i> HG 11 ^c		NA	ATCC 35941	

^a Grupos de hibridación (HG) definidos por la CDC.

^b Se definieron originalmente dos grupos de hibridación dentro de esta especie, el HG8 *A. veronii* bt. *sobria*, y el HG10 *A. veronii* bt. *veronii*. La cepa tipo de la especie pertenece al biotipo *veronii* HG10.

^c Algunos autores consideran que este grupo se corresponde con *A. encheleia*.¹⁴

NA grupo de hibridación no asignado.

ATCC (American Type Culture Collection).

LMG (Laboratorium voor Microbiologie Universiteit Gent).

* Modificado.

trado ser más efectivo que otros medios de composición similar.¹⁶ Para muestras de agua la utilización de la técnica de filtración con membrana y posterior cultivo en medio agar dextrina ampicilina (ADA) sin pre-enriquecimiento es efectiva y permite aislar un elevado número de cepas de este género.¹⁷

La realización de 6 pruebas bioquímicas básicas empleadas para poder identificar a patógenos gastro-intestinales, permiten identificar al género. Estas pruebas incluyen tinción de Gram, la citocromo oxidasa, crecimiento en caldo nutritivo adicionado con 3 ó 6% de NaCl, crecimiento en agar tiosulfato citrato bilis sacarosa (TCBS), producción de ácido de inositol y oxidación-fermentación en el medio Hugh Leifson (O/F) adicionado de glucosa con sello y sin sello de aceite mineral. La respuesta negativa a la prueba de oxidasa permite descartar a los géneros pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*. El género *Vibrio* se identifica al constatar su crecimiento en el medio TCBS a pH 8.0 y en caldo nutritivo adicionado de diferentes concentraciones de NaCl, donde el crecimiento de *Vibrio* es específico del 6%, mientras que algunas especies de *Aeromonas* sólo son capaces de crecer en 3% de NaCl. Adicionalmente, es recomendable realizar la prueba de crecimiento en presencia del agente vibriostático O/129 (2,4 diamino-6-7-diisopropiliteridina) a dos concentraciones 10 y 150 µg, para las cuales *Aeromonas* son resistentes y las cepas de *Vibrio* sensibles. El género *Plesiomonas* se distingue fácilmente de *Aeromonas* realizando la determinación de producción de ácido a partir de inositol, para la cual las especies de *Aeromonas* son negativas. Por último, el género *Pseudomonas* es distinguible comprobando la fermentación de la glucosa, empleando la prueba O/F que en *Aeromonas* es fermentativa.⁷⁻⁸

A pesar de la explosión de nuevas especies de *Aeromonas* sólo algunas se han aislado hasta la fecha en clínica. Las tres especies aisladas predominantemente de muestras clínicas son: *A. caviae*, *A. veronii* bt. *sobria* y *A. hydrophila* que representan el 91% de las cepas del género identificadas utilizando métodos genéticos,¹⁷⁻²⁰ en estudios realizados en España (Figueras observaciones no publicadas), y el 89.5% de las cepas identificadas en México utilizando estos mismos métodos. Janda y Abbott⁴ han descrito valores

superiores al 85% para estas especies, describiendo así mismo como especies menos frecuentes: *A. veronii* bt. *veronii*, *A. jandaei*, *A. schubertii*. Las especies que constituyeron el 9% restante de los aislamientos en los estudios españoles han sido: *A. media* (4.8%), *A. jandaei* (1.7%), *A. sobria* (1.3%), *A. trota* (0.8%) y *A. bestiarum* (0.4%). Mientras que el 10.5 % restante de las cepas clínicas que encontramos en México son *A. bestiarum* (5.6%), *A. salmonicida* (3.3%), *A. media* (0.8%), *A. trota* (0.8%). El resto de las especies se han recuperado sólo de fuentes ambientales o no se han asociado hasta la fecha a ninguna patología, y su aislamiento es en general mucho menos frecuente.^{4,18-21} Estos resultados demuestran que las especies que se encuentran con más frecuencia al identificar tanto con pruebas bioquímicas^{9,13} como con métodos genéticos son: “*A. caviae*”, “*A. hydrophila*” y “*A. sobria*” (*A. veronii* bt. *sobria*).^{18,20} Sin embargo, la frecuencia de aislamiento en clínica de estas especies varía según el área geográfica estudiada, ya que en las cepas estudiadas (n = 68) aisladas en el estado de Hidalgo *A. caviae* (42.6%) fue la especie más prevalente seguida por *A. hydrophila* (36.8%) y finalmente *A. veronii* bt. *sobria* (19.1%), mientras que en las cepas estudiadas (n = 42) aisladas de la ciudad de México *A. veronii* bt. *sobria* (31%) ocupa el primer lugar, seguida de *A. hydrophila* (29%) y finalmente *A. caviae* (17%), contrariamente a lo encontrado en España, donde *A. hydrophila* es la menos aislada de entre estas tres especies.

Para poder establecer cuál es la incidencia real de las especies patógenas es necesario realizar la correcta identificación hasta especie. Se ha propuesto la utilización de 12 pruebas bioquímicas para la identificación de las especies de *Aeromonas* aisladas de muestras clínicas (cuadro 2)¹³ sin embargo, la experiencia demuestra que la identificación correcta sólo puede realizarse utilizando métodos moleculares.¹⁸⁻²¹

En las cepas aisladas del estado de Hidalgo el porcentaje de error en la identificación bioquímica cuando se comparó con la identificación genética fue del 55.9% cuando se realizó con pruebas convencionales de laboratorio y del 32.4% cuando ésta se realizó con el sistema automatizado Vitek incluyendo las pruebas complementarias recomendadas por este sistema, hidrólisis de la esculina, producción de ácido a partir de

Cuadro 2. Pruebas bioquímicas para identificar cepas de las especies de *Aeromonas* aisladas en clínica.^{13*}

Pruebas	A.				A. veronii		A. jandaei	A. schubertii	A. trota
	A. hydrophila	salmonicida ^a	A. caviae	A. media	bt. veronii	bt. sobria			
Indol	+	+	+	+	+	+	+	V	+
LDC	+	V	-	-	+	+	+	V	+
ODC	-	-	-	-	+	-	-	-	-
ADH	+	V	+	+	-	+	+	+	+
VP	+	V	-	-	+	+	+	V	-
Esculina	+	+	+	+	+	-	-	-	-
β-hemólisis	+	V	- ^b	V	+	+	+	V	V
Ácido de:									
L-arabinosa	V	+	+	+	-	V	-	-	-
Sacarosa	+	+	+	+	+	+	-	+	+
D-manitol	+	+	+	+	+	+	+	-	V
D-sorbitol	-	V	-	-	-	-	-	-	-
Gas de glucosa	+	V	-	-	V	+	+	-	V

^a Las cepas de *A. salmonicida* de origen humano son móviles, indol positivo y no producen pigmento.

^b Recientemente se han descrito cepas de *A. caviae* β-hemolíticas.

ADH arginina hidrolasa, LDC lisina descarboxilasa, ODC ornitina descarboxilasa, VP Voges Proskauer.

La β-hemólisis se realiza en base de agar adicionado con sangre de carnero 5%, V = variable.

* Modificado.

glucosa, beta hemólisis en gelosa sangre y crecimiento en NaCl al 6% (observaciones no publicadas).

Aunque las técnicas moleculares en la actualidad no están popularizadas entre los laboratorios de diagnóstico y estos métodos se reservan para su aplicación en la investigación y enseñanza, es importante insistir sobre la utilidad, que para los microbiólogos clínicos representa el conocimiento de los métodos genotípicos para la identificación y/o tipificación de algunos géneros fastidiosos en términos de taxonomía y epidemiología, tal como es el caso de *Aeromonas*.

Este trabajo pretende dar a conocer el género y la importancia que tiene la correcta identificación de las especies, ya que esto sin duda es la clave para que los resultados obtenidos desde cualquier punto de vista tengan validez, puedan ser interpretados y comparados adecuadamente para así dar pasos firmes y avanzar sobre el conocimiento del género en México. Por lo anterior, se sugiere a los laboratorios clínicos que realicen la búsqueda de estas tres especies, tomando siempre en consideración que para analizar los resultados con fines que no sean de reporte en clínica diagnóstica es necesario realizar la confirmación con pruebas genéticas como el RFLP 16S rDNA.¹⁷⁻²⁰ Recomendamos que cuando los aislamientos se identifiquen con un sistema miniaturizado co-

mercial como el API o con un sistema automatizado como Vitek GNI-CARD y BBL® Crystal DD Enteric/Nonfermenter, se efectúen las pruebas complementarias recomendadas por estos sistemas ya que se ha reportado que las bases de datos de estos equipos sólo contemplan tres especies y en la mayoría de las ocasiones dan un informe combinado *A. hydrophila/A. caviae* o *A. hydrophila/A. sobria*. Sin embargo debe tenerse en cuenta que estos sistemas con o sin pruebas complementarias tienden a identificar la mayoría de cepas incorrectamente como *A. hydrophila*, probablemente ésta sea una de las razones de la innmerceda importancia que se ha atribuido a esta especie frente a otras especies con mayor incidencia en clínica, por lo que los resultados no deben considerarse fiables.⁹ Si se trata de un reporte interesante las cepas deberían remitirse para su correcta identificación a un laboratorio de referencia en *Aeromonas*. Adicionalmente es importante no reportar los aislamientos de muestras clínicas identificados por estos sistemas como *A. sobria* por tratarse de una terminología incorrecta para referirse al biotipo *sobria* de la especie *A. veronii*. *A. sobria sensu stricto* es una especie principalmente de origen ambiental mientras que el biotipo *sobria* está frecuentemente involucrado en cuadros clínicos diarreicos.⁹

ECOLOGÍA

El género *Aeromonas* se reconoce desde hace más de 100 años como patógeno de reptiles y de otros animales de sangre fría (poiquiloterms); sin embargo, en los años 70 los miembros de este género se consideraron enteropatógenos y causantes de infecciones cutáneas y diseminadas (infecciones de heridas, septicemia, mionecrosis, meningitis, peritonitis, endocarditis) principalmente en personas inmunodeprimidas pero también en pacientes sin deficiencias inmunológicas aparentes.¹³ Estos microorganismos considerados autóctonos del medio acuático se encuentran ampliamente diseminados en hábitats naturales como suelo, agua potable, aguas negras, aguas contaminadas, ríos, lagos y mar.¹⁷ Este hecho es significativo, ya que se han descrito varios casos de infecciones primarias o secundarias de heridas superficiales o cutáneas después del contacto con agua contaminada con *Aeromonas*.^{3,4,13} Las manifestaciones clínicas de las infecciones cutáneas son muy variables desde una celulitis moderada a una mionecrosis masiva fulminante.²² Un hecho de trascendencia es que *Aeromonas* se ha aislado en aguas potables cloradas o no cloradas e incluso en aguas embotelladas.^{23,24} La mayoría de los sistemas de tratamiento de agua potable son capaces de reducir la concentración de *Aeromonas* por debajo de 1UFC/100 mL^{25,26} no obstante, cuando los niveles de materia orgánica aumentan se inactivan los niveles de cloro y estas bacterias pueden crecer e incluso colonizar los sistemas de abastecimiento, formando biofilms. En el agua tratada, pueden llegar a alcanzar concentraciones de 10³ UFC/100 mL.²⁶ El aislamiento del género *Aeromonas* de muestras de agua depende de diversos factores, algunos de ellos son: la estación del año, la concentración de materia orgánica, el oxígeno disponible, los niveles de cloro y la salinidad.²⁷

Los coliformes fecales son indicadores de contaminación fecal y se utilizan para evaluar la calidad sanitaria del agua, y poder determinar si es o no potable. *Aeromonas* se ha aislado en aguas en las que no se han detectado coliformes indicándose en consecuencia que su presencia no se correlaciona con la de estos indicadores.¹⁷ Algunos autores consideran que *Aeromonas* podría considerarse como un indicador del fun-

cionamiento del sistema de tratamiento y potabilización del agua.²⁸

Estos microorganismos también se han aislado en una gran variedad de alimentos: productos cárnicos, pescado, mariscos, alimentos preparados, productos de pastelería, verduras, leche y derivados lácteos por lo que algunos autores consideran que *Aeromonas* debería incluirse en la lista de microorganismos que pueden actuar como agentes causantes de toxoinfecciones alimentarias.²⁹⁻³²

Se han descrito diversas especies del género *Aeromonas* asociadas a numerosas patologías de peces de interés en acuicultura, provocando pérdidas económicas significativas.³³ *A. salmonicida* es considerada el principal agente etiológico de furunculosis en diferentes especies de peces, entre las que se incluyen salmón, trucha, rodaballo, pez oro, pez blanco y otros, causando una importante mortalidad, *A. hydrophila* y *A. jandaei* son causantes de aeromoniasis en pez gato y anguilas.³³ En un estudio realizado a partir de pescado congelado destinado al consumo humano en la Ciudad de México^{34,35} las especies más frecuentes tras la identificación genética fueron *A. salmonicida* (69%) y *A. bestiarum* (14%), aunque es interesante recalcar que entre los demás aislamientos se encontraron cepas de *A. encheleia* (4.2%), especie reportada por primera vez en México.

VÍAS DE TRANSMISIÓN

A pesar de que existen evidencias que asocian los alimentos como el vehículo de transmisión de las infecciones gastrointestinales causadas por los miembros del género *Aeromonas* son pocos los brotes alimentarios documentados. Altwegg en 1991,²⁹ describió un brote de gastroenteritis por consumo de un "cocktail" de camarones y existen otros brotes documentados siendo el más notable el reportado por Abeyta y colaboradores en 1986, en donde hubo 472 casos asociados al consumo de ostras en Louisiana, USA.³² El consumo de agua y/o alimentos contaminados así como el contacto directo del agua con heridas han sido consideradas clásicamente las fuentes de infecciones cutáneas y gastrointestinales por *Aeromonas*. Se ha observado, que la concentración de estos microorganismos varía en las estaciones del año, obteniéndose los mayores recuen-

tos cuando la temperatura ambiente supera los 20°C, esta frecuencia aumentada corresponde a la época del año en que hay mayor incidencia de cuadros diarreicos, lo que apoya la hipótesis de considerar que el agua y los alimentos, en estos periodos, son los principales vehículos de transmisión de *Aeromonas*.^{23,25,30-33}

FACTORES ASOCIADOS A LA VIRULENCIA

Aunque se han realizado numerosos estudios para elucidar el o los mecanismos de patogenicidad en las infecciones causadas por *Aeromonas*, no se ha logrado la conciliación de los resultados para establecer dicho mecanismo de forma contundente.¹³ Sin embargo, se han identificado un gran número de estructuras y enzimas extracelulares que parecen tener un papel importante en la patogenicidad de las infecciones intestinales y sistémicas.^{9,13}

Algunos de los factores asociados a virulencia se han identificado y caracterizado en estudios *in vivo* e *in vitro*, lo que ha permitido conocer su función biológica y comparar la similitud genómica que pudiera existir con otros factores de virulencia descritos en otros agentes bacterianos.³⁶⁻⁴³ A continuación se realiza una descripción breve de las estructuras asociadas a la virulencia:

- Cápsula. Algunos estudios han demostrado la presencia de cápsula en algunos serogrupos de *A. hydrophila* y aunque se cuenta con poca información sobre su composición y su posible relación con patogenicidad, existen trabajos preliminares que reportan que las cepas no capsuladas son menos virulentas para el ratón que las capsuladas.^{36,37}
- Capa S. Esta estructura de naturaleza proteica, se involucra en la unión de la bacteria a los componentes celulares de la célula huésped y confiere resistencia a las propiedades bactericidas del complemento, por lo que se considera un importante factor de virulencia.^{38,39}
- Lipopolisacárido (LPS). Se reconocen al menos 97 serogrupos distintos entre las *Aeromonas* en base a los antígenos presentes en la región O del LPS. Se ha demostrado que los serotipos O:34, O:11 y O:16 son los más prevalentes en diversas áreas geográficas y se relacionan particularmente

con infecciones sistémicas y a algunos casos de gastroenteritis.⁴⁰

- Pili. Se han descrito tres tipos de pili: los pili de tipo I, descritos en *A. hydrophila*, con una composición en aminoácidos muy similar a los pilis tipo I de *E. coli*; los pilis tipo IV descritos en *A. hydrophila*, *A. caviae* y *A. veronii*, que pueden formar bucles (Bfp) y expresarse conjuntamente con pilis tipo I; y el tercer tipo se denomina mini-pili, y está constituido de una pilina que guarda gran semejanza con la pilina Cep de *V. cholerae*. La adherencia mediada por estos pilis se ha ensayado en conejos y en diferentes líneas celulares eucarióticas, describiéndose que la adhesión mediada por pilis favorece el proceso de colonización de estas bacterias.⁴¹⁻⁴³
- Proteínas de membrana externa (OMP). La caracterización de las OPM de *Aeromonas* es limitada. La purificación y caracterización parcial de éstas, revela tres diferentes proteínas y se está investigando la posibilidad de que algunas tengan propiedades formadoras de canales. Se ha identificado una OMP de 34 kDa en *A. caviae* que está implicada en adherencia *in vitro* a células intestinales.⁴⁴ Las *Aeromonas* también producen una gran cantidad de enzimas extracelulares que degradan activamente complejos proteicos, polisacáridos, mucopolisacáridos y moléculas que contienen lípidos. Estas enzimas son útiles en la identificación de la bacteria, en sus funciones fisiológicas y son considerados frecuentemente factores asociados a la virulencia, en éste y en otros géneros bacterianos.⁴⁵⁻⁶¹
- Hemolisinas. La caracterización de las hemolisinas se ha dificultado por la terminología múltiple con la que han sido descritas por los distintos autores.⁴⁶ La hemolisina originalmente denominada aerolisina⁴⁷ es la beta hemolisina prototipo para el género, su secuencia de aminoácidos es parcialmente semejante a la de la toxina α de *Staphylococcus aureus* y con la enterotoxina A. de *Clostridium perfringens*.⁴⁸ La aerolisina se caracteriza por la formación de poros en la membrana de las células huésped (efecto citolítico) y por producir acumulación de fluidos en diversos modelos animales, por lo cual se le asocia con la producción de cuadros de gastroenteritis.⁴⁹

- Enterotoxinas citotónicas. Este tipo de toxinas se distinguen *in vitro* de las aerolisinas y β -hemolisinas por su capacidad de producir elongación de las células pero no lisis. Se han descrito dos tipos de actividad citotónica, una asociada al incremento del adenosil monofosfato cíclico (AMPC) pero que no se parece estructuralmente a la toxina colérica y el segundo tipo que tiene un mayor grado de homología con la toxina colérica. Estas toxinas se asocian con la producción de diarrea acuosa.⁵⁰⁻⁵²
- Proteasas. Éstas son capaces de degradar diferentes compuestos como albúmina, fibrina, gelatina y elastina. Una misma cepa puede producir diversas proteasas. Sin embargo, sólo algunas actividades enzimáticas se han caracterizado y la mayoría de estos estudios se han realizado en *A. hydrophila*. Los dos principales tipos de proteasas son las metaloproteasas y las serina proteasas. Las proteasas pueden jugar un papel importante en el mantenimiento de las infecciones en heridas de humanos y en las lesiones de piel de peces.^{53,54}
- Lipasas. Éstas actúan como hidrolasas sobre los lípidos de membrana, y se han descrito cuatro lipasas diferentes, sin embargo sólo dos, la glicerofosfolípido colesterol aciltransferasa (GCAT) y la lecitinasa-fosfolipasa C (Plc) se han asociado con patogenicidad en peces, líneas celulares y ratones, aunque aún no se ha descrito el papel que éstas tienen en las infecciones en humanos.⁵⁵⁻⁵⁸
- Desoxirribonucleasas. Se han descrito al menos tres de estas proteínas, se desconoce la posible función que pueden desempeñar en la patogenia de *Aeromonas*. Sin embargo en otros géneros como *Streptococcus*, las nucleasas extracelulares son consideradas de gran importancia para el establecimiento y desarrollo de la infección.⁵⁹
- Sideróforos. Son compuestos con una alta afinidad por el hierro y que son sintetizados bajo condiciones de estrés por las bacterias, para competir por este crítico elemento, cuando su concentración está limitada. Algunas cepas de *A. hydrophila* y *A. caviae* sintetizan un sideróforo denominado amonobactina, sin embargo no se ha corroborado si lo producen durante el desarrollo de la infección.^{60,61}

TRATAMIENTO

Las *Aeromonas* producen metalobetalactamasas (grupo 3), betalactamasas que hidrolizan cefalosporinas (grupo 1) y betalactamasas que hidrolizan carbenicilina (grupo 2c) según la clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros.⁶² Por lo tanto son resistentes a antibióticos betalactámicos como la penicilina, ampicilina y cefalotina. Los estudios realizados en México con 151 cepas aisladas de muestras clínicas, agua y pescado mostraron que la mayoría de las cepas eran sensibles a cefalosporinas de segunda y tercera generación así como a las quinolonas, presentando una resistencia variable a los aminoglucósidos y a los macrólidos. Estos resultados evidenciaron que las cefalosporinas y quinolonas pueden utilizarse de forma segura para el tratamiento de las infecciones causadas por las *Aeromonas* y en caso de requerirse por infección de larga evolución o crónica, así como en individuos inmunocomprometidos. En general los cuadros diarreicos en individuos sanos son autolimitantes y curan en pocos días con dieta y rehidratación oral en niños.^{21,34-35}

ANTECEDENTES EN MÉXICO

Los estudios del género *Aeromonas* se iniciaron hace 20 años en México. Diversos autores, han realizado estudios para su aislamiento e identificación a partir de muestras clínicas, agua y alimentos, etc., otros destinados a la descripción de los factores de virulencia y más recientemente a la caracterización de las cepas desde un punto de vista genético (cuadro 3). A pesar de que se han explorado ya algunos de los campos sobresalientes de este género desde el punto de vista clínico y sanitario, hasta la fecha estos estudios han tenido una limitada difusión entre los microbiólogos clínicos e investigadores. Si bien se han realizado comunicaciones en diversos congresos temáticos, estos trabajos no se han publicado posteriormente en revistas de divulgación nacional e internacional, lo cual limita significativamente que la información llegue a los profesionales de estas áreas, e incluso a investigadores de otros países. Este aspecto disminuye la importancia o el impacto que estos estudios pudieran tener en nuestro país.

Cuadro 3. Antecedentes del género *Aeromonas* en México.^{65*}

Año	Autor	Título del trabajo	Tipo de estudio
1981	Escamilla AE	Diarrea producida por especies de la familia <i>Vibrionaceae</i>	Comunicación en Congreso
1984	Rebollo B/Escamilla AE	Aislamiento e identificación de <i>Aeromonas</i> spp. y <i>P. shigelloides</i> como causa de diarrea en humanos	Comunicación en Congreso
1986	Ruíz SC/Escamilla AE	Detección de enterotoxina de <i>Aeromonas</i> spp.	Tesis de Licenciatura, ENCB IPN
1990	Espejel PG/Escamilla AE	Obtención de suero anti-enterotoxina de <i>A. hydrophila</i> en animales de laboratorio	Tesis de Licenciatura, ENCB IPN
1991	Díaz-Flores L/Escamilla AE.	Investigación de la enterotoxigenicidad de <i>A. hydrophila</i> y su relación con otras bacterias asociadas al síndrome diarreico	Tesis de Licenciatura, ENCB IPN.
1995	Ramírez GM/ Castro-Escarpulli G	Producción de enterotoxina, sensibilidad antimicrobiana y perfil plasmídico en <i>Aeromonas</i> spp.	Tesis de Licenciatura, ENCB IPN
1996	Martínez SNP/Escamilla AE	Caracterización de <i>Aeromonas</i> spp. aisladas de pacientes con sintomatología de origen infeccioso en el Distrito Federal	Tesis de Licenciatura, UACH/ENCB IPN
1997	Villaruel LA/Mota de la Garza L/Castro-Escarpulli G	Investigar el riesgo que presenta la sobrevivencia de <i>Aeromonas</i> spp. en agua tratada	Tesis de Maestría, ENCB IPN
1998	Castro-Escarpulli G/ Aparicio OG	Determinación de algunos factores de virulencia en cepas de <i>Aeromonas</i> spp. aisladas de muestras clínicas y agua	Tesis de Maestría, ENCB IPN
2000	Aguilera-Arreola MG/ Castro-Escarpulli G	Caracterización de cepas de <i>Aeromonas</i> spp. aisladas de pescado congelado	Tesis de Licenciatura, ENCB IPN
2001	Tequianes BL/Pérez GD/ Castro-Escarpulli G	Aislamiento y caracterización de <i>Aeromonas</i> a partir de muestras de agua potable de la FES Zaragoza y otras dependencias de la UNAM	Tesis de Licenciatura, UNAM/ENCB IPN
2002	Aguilera-Arreola MG/ Aparicio OG/ Castro-Escarpulli G	Estudio de la diversidad genética de cepas de <i>A. hydrophila</i> aisladas de orígenes diferentes	Tesis de Maestría, ENCB IPN
2002	Arteaga GR/Ocaña NA/ Castro-Escarpulli G	Tipificación de cepas de <i>Aeromonas</i> aisladas en México	Tesis de Licenciatura, UNAM/ENCB IPN
2002	Castro-Escarpulli G/ Aguilera-Arreola MG/ Bravo-Farías L	Factores de virulencia en cepas de <i>Aeromonas caviae</i> aisladas de enfermedad diarreica agua en Cuba	Publicación. En prensa. ENCB IPN/IPK
2002	Chacón MR/Figueras MJ/ Castro-Escarpulli G/ Soler L/Guarro ¹ J	Distribution of virulence genes in clinical and environmental isolates of <i>Aeromonas</i> spp.	Enviado para publicación. ENCB IPN/URV
2002	Castro-Escarpulli G/ Figueras MJ/ Aguilera-Arreola MG/Soler L/Fernández-Rendón E/Chacón MR/ Aparicio G/Guarro J	Characterization of <i>Aeromonas</i> spp. isolated from frozen fish intended for human consumption in Mexico	Enviado para publicación. ENCB IPN/URV
2002	Chacón MR/ Castro-Escarpulli G/ Figueras MJ	A DNA probe specific for <i>Aeromonas</i> colonies	Publicación. En prensa. ENCB IPN/URV

INNSZ: Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán", UACH: Universidad Autónoma de Chiapas, IPK: Instituto Pedro Kouri, La Habana Cuba, URV: Universidad Rovira i Virgili, Reus España, UNAM: Universidad Autónoma de México, ENCB: Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN: Instituto Politécnico Nacional. Modificado*.

El estudio de las *Aeromonas* se ha constituido en una parte importante del programa de investigación del Laboratorio de Bacteriología Médica de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN, desde 1981.⁶³ Actualmente se están realizando investigaciones no sólo a nivel fenotípico sino también genotípico, para así obtener una caracterización taxonómica

correcta, además se ha establecido una colaboración importante con instituciones de investigación extranjeras como son la Unidad de Microbiología de la Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud de la Universidad de Rovira i Virgili, Reus, España, con el Servicio de Diagnóstico Molecular de la Escuela Politécnica Superior de Orihuela, Universidad Miguel

Hernández y con el Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri de la Habana, Cuba.^{34,64,65}

El cuadro 3 presenta un resumen de diversas contribuciones al estudio de *Aeromonas* en México. Este artículo intenta dar a conocer el género y motivar a los laboratorios clínicos a investigar la incidencia de estos microorganismos y así poder avanzar en la confirmación de su papel como patógeno humano en México.⁶⁶

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte de los proyectos "Estudio de los RFLP de los espacios intergénicos 16S-23S rDNA de cepas de *Aeromonas* aisladas en México". CGPI 200468 del Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, México; FIS 90/044 y FIS 96/0579 del Ministerio de Salud Español; de CIRIT (SGR 1999/00103 y de la Fundación Ciencia i Salut, España.

REFERENCIAS

- Giono CS. Agentes bacterianos de infecciones gastrointestinales, en: Giono CS, Escobar GA y Valdespino GJ, eds. Diagnóstico de Laboratorio de Infecciones Gastrointestinales. México D.F.: Secretaría de Salud. 1994:175-9.
- Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. México D.F.: Secretaría de Salud. 2001: 18, Semana 52.
- Janda JM. Recent advances in the study of the taxonomy, pathogenicity and infectious syndromes associated with the genus *Aeromonas*. Clin Microbiol Rev 1991;4:397-410.
- Janda JM, Abbott SL. Evolving concepts regarding the genus *Aeromonas* an expanding panorama of species, diseases presentation, and unanswered questions. J Clin Infect Dis 1998;17:332-44.
- Rebollo B, Escamilla AE. Aislamiento e identificación de *Aeromonas* spp. y *Plesiomonas shigelloides* como causa de diarrea en humanos. INNSZ. 1984. Memorias Congreso Nacional Mexicano. Veracruz.
- Martínez SP. Caracterización de cepas de *Aeromonas* aisladas de pacientes con síntomas de origen infeccioso en el Distrito Federal. 1996. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Chiapas.
- Popoff M. Genus III. *Aeromonas* Kluyver and van Niel 1936, in: Krieg NR and Holt JG, eds. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Baltimore: Williams & Wilkins Co. 1984:545-8.
- Colwell RR, Mac Donell MT, De Ley J. Proposal to recognize the family *Aeromonadaceae* fam. nov. Int J Syst Bacteriol 1986;36:473-7.
- Altwegg M. *Aeromonas* and *Plesiomonas*, in: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, eds. Manual of Clinical Microbiology. Washington: ASM press. 1999:507-16.
- Anzai Y, Kim H, Parkj Y, Wekabaya H, Oyaizu H. Phylogenetic affiliation of the *Pseudomonas* based on 16S rRNA sequence. Int J Syst Evol Microbiol 2000;50:1563-89.
- Pavan ME, Abbot SL, Zorzopulos J, Janda JM. *Aeromonas salmonicida* subs. *pectinolytica* subs. nov., a new pectinase-positive subspecies isolated from a heavily polluted river. Int J Syst Evol Microbiol 2000;3:1119-24.
- Notederdaeme L, Bigawa S, Steigerwalt AG, Brenner DJ, Olivevier F. Numerical taxonomy and biochemical identification of fish associated motile *Aeromonas* spp. Syst Appl Microbiol 1996;19:624-33.
- Janda JM. *Aeromonas* and *Plesiomonas*, in: Sussman M, ed. Molecular Medical Microbiology. San Diego: Academic Press. 2001:1237-70.
- Martínez-Murcia AJ. Phylogenetic positions of *Aeromonas* DNA hybridization group 11, *Aeromonas popoffii*, and *Aeromonas* Group 501. Int J Syst Bacteriol 1999;49:1403-8.
- Collins MD, Martínez-Murcia AJ, Cai J. *Aeromonas enteropelogenes* and *Aeromonas ichthiosmia* are identical to *Aeromonas trota* and *Aeromonas veronii*, respectively, as revealed by small-subunit rRNA sequence analysis. Int J Syst Bacteriol 1993;43:855-6.
- Gobat P, Jemmi T. Comparison of seven selective media for the isolation of mesophilic *Aeromonas* species in fish and meat. Int J Food Microbiol 1995;24:375-84.
- Borrell N, Figueras MJ, Guarro J. Phenotypic identification of *Aeromonas* genomospecies from clinical and environmental sources. Can J Microbiol 1998;44:7-12.
- Figueras MJ, Guarro J, Martínez-Murcia AJ. Clinically relevant *Aeromonas* species. Clin Infect Dis 2000;30:988-9.
- Figueras MJ, Guarro J, Martínez-Murcia AJ. Use of restriction fragment length polymorphism of the PCR-amplified 16S rRNA gene for the identification of *Aeromonas* spp. J Clin Microbiol 2000;38:2023-25.
- Figueras MJ, Soler L, Chacón MR, Guarro J, Martínez-Murcia AJ. Extended method for discrimination of *Aeromonas* spp. by 16S rDNA RFLP analysis. Int J Syst Evol Microbiol 2000;50:2069-73.
- Castro-Escarpulli, G. Determinación de algunos factores de virulencia en cepas de *Aeromonas* spp. aisladas de muestras clínicas y de agua. 1998. Tesis de Maestría. ENCB IPN, México DF.
- Joseph SW, Daily OP, Hunt WS, Jseidlen R, Colwell R. *Aeromonas* primary wound infection of a diver in polluted waters. J Clin Microbiol 1979;10: 46-9.
- Kühn I, Huys G, Coopman R, Kersters K, Janssen P. A 4-year study of the diversity and persistence coliforms and *Aeromonas* in the water of a Swedish drinking water well. Can J Microbiol 1997;43:9-16.
- Kühn I, Allestam G, Huys G, Janssen P, Kerster K, Krovacek K, et al. Diversity, persistence, and virulence of *Aeromonas* strains isolated from drinking water distribution systems in Sweden. Appl Environ Microbiol 1997;63:2708-15.
- Pettibone GW. Population dynamics of *Aeromonas* spp. in an urban river watershed. J Appl Microbiol 1998;85:723-30.
- Massa S, Armuzzi R, Tosques M, Canganella F, Trovatielli LD. Susceptibility to chlorine of *Aeromonas hydrophila* strains. Lett Appl Microbiol 1999;86:169-73.
- McClure PJ, Cole MB, Davies KW. An example of the stages in the development of a predictive mathematical model for microbial growth: the effects of NaCl, pH and temperature on the growth of *Aeromonas hydrophila*. Int J Food Microbiol 1994;23:359-75.
- Szewzyk V, Szewzyk R, Manis W, Schleifer H. Microbiological safety of drinking water. Annu Rev Microbiol 2000;54:81-127.
- Altwegg M, Martinetti LG, Lüthy-Hottenstein J, Rohrbach M. *Aeromonas*-associated gastroenteritis after consumption of

- contaminated shrimp. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1991; 10:44-5.
30. Kirov SM. The public health significance of *Aeromonas* spp. in foods. *Int J Food Microbiol* 1993;20:179-98.
 31. Gracey M, Burke V, Robinson J. *Aeromonas*-associated gastroenteritis. *Lancet* 1982;2:1304-6.
 32. Abeyta C, Kaysner CHA, Wekell MM, Sullivan JJ, Stelma GN. Recovery of *Aeromonas hydrophila* from oysters implicated in an outbreak of food borne illness. *J Food Prot* 1986;49:643-6.
 33. Austin B, Austin DA, Dalsgaard I, Gudmundsdóttir BK, Hoie S, Thornton JM, et al. Characterization of atypical *Aeromonas salmonicida* by different methods. *Syst Appl Microbiol* 1998;21:50-64.
 34. Castro-Escarpulli G, Figueras MJ, Aguilera-Arreola MG, Soler L, Fernández-Rendón E, Chacón MR, et al. Characterization of *Aeromonas* spp. isolated from frozen fish intended for human consumption in Mexico. (Observaciones no publicadas)
 35. Aguilera-Arreola MG. Caracterización de cepas de *Aeromonas* spp. aisladas de pescado congelado. 2000. Tesis de Licenciatura. ENCB IPN, México DF.
 36. Martínez MJ, Simon-Pujol D, Congregado F. The presence of capsular polysaccharide in mesophilic *Aeromonas hydrophila* serotypes O:11 and O:34. *FEMS Microbiol Lett* 1995;128:69-73.
 37. Kokka RP, Janda JM, Oshiro LS, Altwegg M, Shimada T, Sakazaki R et al. Biochemical and genetic characterization of autoagglutinating phenotypes of *Aeromonas* species associated with invasive and noninvasive disease. *J Infect Dis* 1991;163:890-4.
 38. Dooley JSG, McCubbin WD, Kay CM, Trust TJ. Isolation and biochemical characterization of the S-layer protein from a pathogenic *Aeromonas hydrophila* strain. *J Bacteriol* 1988;170:2631-8.
 39. Kokka RP, Velki AM, Clark RB, Bottone EJ, Janda J. Immune response to S layer-positive O:11 *Aeromonas* associated with intestinal and extraintestinal infections. *Immunol Infect Dis* 1992;2:111-4.
 40. Dooley JSG, Lallier R, Shaw DH, Trust TJ. Electrophoretic and immunochemical analyses of the lipopolysaccharides from various strains of *Aeromonas hydrophila*. *J Bacteriol* 1985;164:263-9.
 41. Ho Asy, Sohel I, Schoolnik GK. Cloning and characterization of *fxp*, the flexible pilin gene of *Aeromonas hydrophila*. *Mol Microbiol* 1992;6:2725-32.
 42. Kirov SM, Sanderson K. Characterization of a type IV bundle-forming pilus (SFP) from a gastroenteritis-associated strain of *Aeromonas veronii* bv *sobria*. *Microb Pathog* 1996;21:23-34.
 43. Pepe CM, Eklund MW, Strom MS. Cloning of an *Aeromonas hydrophila* type IV pilus biogenesis gene cluster: complementation of pilus assembly functions and characterization of a type IV leader peptidase/N-methyltransferase required for extracellular protein secretion. *Mol Microbio* 1996;19: 8578-91.
 44. Jeanteur D, Gletsu N, Pattus F, Buckley JT. Purification of *Aeromonas hydrophila* major outer-membrane proteins: N-terminal sequence analysis and channel-forming properties. *Mol Microbiol* 1992;6:3355-63.
 45. Pemberton JM, Kidd SP, Schmidt R. Secreted enzymes of *Aeromonas*. *FEMS Microbiol Lett* 1997;152:1-10.
 46. Buckley JT, Howard SP. The cytotoxic enterotoxin of *Aeromonas hydrophila* is aerolysin. *Infect Immun* 1999;67:466-7.
 47. Bernheimer AW, Avigad LS. Partial characterization of aerolysin, a lytic exotoxin from *Aeromonas hydrophila*. *Infect Immun* 1974;9:1016-21
 48. Howard SP, Garland WJ, Green MJ, Buckley JT. Nucleotide sequence of the gene for the hole-forming toxin aerolysin of *Aeromonas hydrophila*. *J Bacteriol* 1987;169:2869-71.
 49. Buckley JT. The channel – forming toxin aerolysin. *FEMS Microbiol Immunol* 1992;5:13-7.
 50. Chopra AK, Houston CW. Enterotoxins in *Aeromonas*-associated gastroenteritis. *Microbes Infect* 1999;1:1129-37.
 51. Albert JM, Ansaruzzaman M, Talukder KA, Chopra AK, Inger Kuhn, Rahman M et al. Prevalence of enterotoxin genes in *Aeromonas* spp. isolated from children with diarrhea, healthy controls, and the environment. *J Clin Microbiol* 2000;38: 3785-90.
 52. Chopra AK, Xu XJ, Ribardo D, González M, Jul K, Peterson JM et al. The cytotoxic enterotoxin of *Aeromonas hydrophila* induces proinflammatory cytokine production and activates arachidonic acid metabolism in macrophages. *Infect Immun* 2000;5:2808-18.
 53. Rodríguez LA, Ellis AE, Nieto TP. Purification and characterization of an extracellular metalloprotease, serine protease and haemolysin of *Aeromonas hydrophila* strain B32: all are lethal for fish. *Microb Pathog* 1992;13:17-24.
 54. Cascón A, Yugueros J, Temprano A, Sánchez M, Hernanz C, Luengo JM et al. A major secreted enastase is essential for pathogenicity of *Aeromonas hydrophila*. *Infect Immun* 2000;68:3233-41.
 55. Merino S, Aguilar A, Noguera MM, Regue M, Swift S, Tomás JM. Cloning, sequencing and role in virulence of two phospholipases (A1 and C) from mesophilic *Aeromonas* sp. serogroup O:34. *Infect Immun* 1999;67:4008-13.
 56. Anguita J, Rodríguez-Aparicio LB, Navarro G. Purification, gene cloning, amino acid sequence analysis, and expression of an extracellular lipase from an *Aeromonas hydrophila* human isolate. *Appl Environ Microbiol* 1993;59:2411-7.
 57. Brumlik MJ, Buckley JT. Identification of the catalytic triad of lipase/acyltransferase from *Aeromonas hydrophila*. *J Bacteriol* 1996;178:2060-4.
 58. Vipond R, Bricknell IR, Durant E, Bowden TJ, Ellis AE, Smith M et al. Defined deletion mutants demonstrate that the major secreted toxins are not essential for the virulence of *Aeromonas salmonicida*. *Infect Immun* 1998;66:1990-8.
 59. Chang MC, Chang SY, Chen SL, Chuang SM. Cloning and expression in *Escherichia coli* of the gene encoding an extracellular deoxyribonuclease (DNase) from *Aeromonas hydrophila*. *Gene* 1992;122:175-180.
 60. Barghouthi S, Young R, Olson MOJ, Arceneaux JE, Clem LW, Byers BR. Amonabactin, a novel tryptophan- or phenylalanine-containing phenolate siderophore in *Aeromonas hydrophila*. *J Clin Microbiol* 1989;171:1811-6.
 61. Stintzi A, Barnes C, Xu J, Raymond KN. Microbial iron transport via a siderophore shuttle: a membrane ion transport paradigm. *Proc Natl Acad Sci* 2000;97:10691-6.
 62. Bush K. Classification of beta-lactamases: groups 2c, 2d, 2e, 3, and 4. *Antimicrob Agents Chemother* 1989;33:271-6.
 63. Escamilla AE. Diarrea producida por especies de la familia *Vibrionaceae*. 1981. Congreso Nacional de Microbiología. Guanajuato.
 64. Castro-Escarpulli G. Factores de virulencia en cepas de *Aeromonas caviae* aisladas de enfermedad diarreica aguda en Cuba. *Rev Lat Microbiol* 2002;44:11-13.
 65. Chacón RM, Figueras MJ, Castro-Escarpulli G, Soler L, Guarro J. Distribution of virulence genes in clinical and environmental isolates of *Aeromonas* spp. (Observaciones no publicadas).
 66. Aguilera-Arreola MG. Diversidad genética de cepas de *Aeromonas hydrophila* aisladas de orígenes diferentes. 2002. Tesis de Maestría. ENCB IPN, México DF.