

## Género *Aeromonas* como patógeno oportunista emergente en peces y humanos, y su resistencia a antibióticos

Dulce Andrea Montes Pérez<sup>1</sup>, Antonino Baez<sup>2</sup>, Berenice Venegas<sup>1</sup>, Rosalina María de Lourdes Reyes-Luna<sup>1</sup>, Dalia Molina-Romero<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Biológicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Ciudad Universitaria. Colonia Jardines de San Manuel. Puebla, Puebla. <sup>2</sup> Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Edificio IC11, Ciudad Universitaria, Puebla, México

### ABSTRACT

#### Resistance to antibiotics of the genus *Aeromonas*, as an emerging opportunistic pathogen in fish and humans

*Aeromonas* is a bacteria genus reported as an emerging pathogen; due to its ability to generate infectious diseases that affect the gastrointestinal system, the circulatory system and some soft tissues of immunocompromised individuals, older adults and infants. Also, *Aeromonas* is an opportunistic pathogen of mammals and fish with various virulence factors. This genus proliferates in multiple environments such as soil, water, and on different hosts. This bibliographic review aims to describe the metabolic and genetic processes that give the genus *Aeromonas* resistance to antibiotics, the ability to form a biofilm, genes regulated by *Quorum Sensing* (QS), and horizontal gene transfer. In addition, it discusses some characteristics that position *Aeromonas* infection as a public health problem. The exhaustive review of the genus *Aeromonas* was carried out in the databases of the National Center for Biotechnology Information (NCBI) and the Multidisciplinary Institute of Digital Publications (MDPI) from 2017 to date and the following search criteria were considered: virulence factors, antibiotic resistance, biofilm formation, and horizontal gene transfer. The investigation indicated that *Aeromonas* presents several extracellular, enzymatic, and structural virulence factors; moreover, it is resistant to antibiotics such as beta-lactams, tetracyclines, and macrolides, and it has several genes that give it this resistance. Likewise, the genus *Aeromonas* can form biofilm, and it has three QS systems.

#### Historial del artículo

Recibido: 19 ago 2022

Aceptado: 14 feb 2023

Disponible en línea: 1 mayo 2023

#### Palabras clave

*Aeromonas*, resistencia a antibióticos, genes, biopelícula, factores de virulencia

#### Keywords

*Aeromonas*, antibiotic resistance, genes, biofilm, virulence factors

Copyright © 2023 por autores y Revista Biomédica.

Este trabajo está licenciado bajo las atribuciones de la *Creative Commons* (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

\*Autor para correspondencia:

Dalia Molina-Romero, Facultad de Ciencias Biológicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Blvd. Valsequillo y Av. San Claudio, Ed. BIO1. Ciudad Universitaria. Colonia Jardines de San Manuel. Puebla, Puebla, C.P. 72592  
E-mail: [dalia.molina@correo.buap.mx](mailto:dalia.molina@correo.buap.mx)  
<https://revistabiomedica.mx>.

## RESUMEN

*Aeromonas* es un género bacteriano reportado como patógeno emergente; debido a su capacidad de generar enfermedades infecciosas que afectan el sistema gastrointestinal, el circulatorio y algunos tejidos blandos de individuos inmunocomprometidos, adultos mayores e infantes. También, *Aeromonas* se comporta como un patógeno oportunista de mamíferos y peces, y posee diversos factores de virulencia. Este género prolifera en diversos ambientes como el suelo, agua y diferentes hospederos. La presente revisión bibliográfica tiene como objetivo describir los procesos metabólicos y genéticos que le confieren al género *Aeromonas* la resistencia a antibióticos, la capacidad de formar biopelícula, los genes regulados por el *Quorum Sensing* (QS) y la transferencia horizontal de genes. Además, de discutir algunas características que posicionan a la infección por *Aeromonas* como un problema potencial de salud pública. La revisión exhaustiva se realizó en las bases de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) y del Instituto Multidisciplinario de Publicaciones Digitales (MDPI), del 2017 a la fecha y se consideraron los siguientes criterios de búsqueda: factores de virulencia, resistencia a antibióticos, formación de biopelícula y transferencia horizontal de genes. La investigación indicó que *Aeromonas* presenta varios factores de virulencia extracelulares, enzimáticos y estructurales; es resistente a antibióticos como betalactámicos, tetraciclinas y macrólidos y presenta varios genes que le confieren esta resistencia; asimismo, el género tiene la capacidad de formar biopelícula y posee tres sistemas de QS.

## INTRODUCCIÓN

El género *Aeromonas* pertenece a la clase Gammaproteobacteria y forma parte de la familia *Aeromonadaceae*, son bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos, heterotróficos, citocromo oxidasa y catalasa positiva, capaces de fermentar glucosa (1, 2). Prolifera en un intervalo amplio de temperaturas y a un pH ácido (3), se clasifican en: bacterias psicrofílicas (22 a 28 °C), como *Aeromonas*

*salmonicida* y mesófilas (35 a 37 °C), como *Aeromonas hydrophila* y *A. caviae* (2, 4).

El género incluye 36 especies, de acuerdo con la identificación genotípica y taxonómica (en 2021); *A. caviae*, *A. hydrophila*, *A. salmonicida* y *A. veronii* son descritas como patógenos primarios u oportunistas (2). *Aeromonas* prolifera en ecosistemas acuáticos (3), algunas especies de éste (2) causan infecciones en hospederos como peces, mamíferos, entre ellos los humanos, la vía de infección oral es más frecuente, por consumo de agua y alimentos contaminados (5), esto es preocupante para la salud pública, por lo que es necesario aplicar la normativa para mantener la calidad del agua y de los alimentos (1).

### Patógeno oportunista

*Aeromonas* es un patógeno capaz de infectar diversas células blanco y genera infecciones en heridas (septicemia de individuos inmunodeprimidos), gastroenteritis (infantes y adultos mayores), obstrucción e inflamación del intestino delgado (4) e infecciones extra intestinales como abscesos, úlceras, peritonitis, colangitis y neumonía (6). *A. hydrophila*, *A. veronii* y *A. salmonicida* han sido catalogadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como microorganismos de riesgo II, estos microorganismos pueden ocasionar enfermedades en humanos y otros mamíferos, sin representar un riesgo para el personal del laboratorio que manipula esta bacteria o para el ambiente (7).

Estudios reportaron a *Aeromonas* como patógeno de peces; no obstante, es parte de la microbiota intestinal de peces y mamíferos sanos y puede comportarse como patógeno oportunista (1), *A. hydrophila* y *A. veronii* infectan peces como: *Piaractus mesopotamicus* (8), ciprínidos y *Danio rerio* (4, 9). La infección bacteriana de los peces es considerada un problema económico y de salud, debido a las pérdidas en la industria piscícola (8).

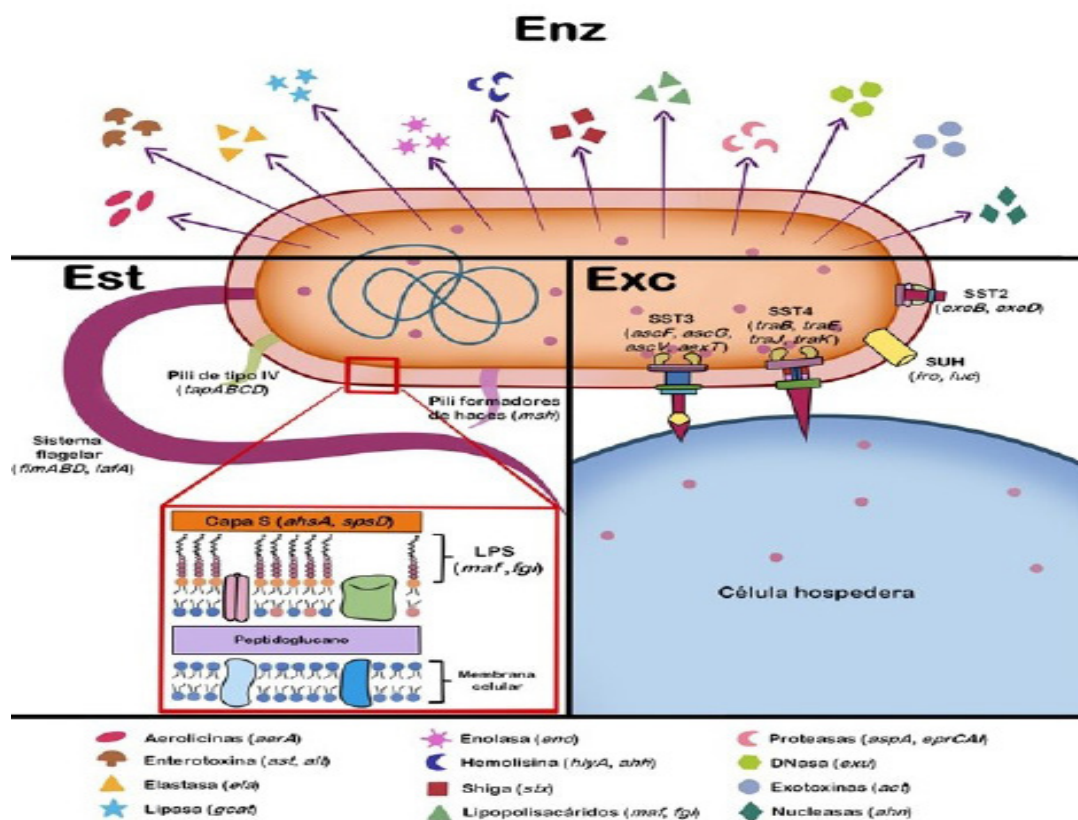
Por lo anterior, esta revisión analizó estudios de peces cultivados en granjas, en los que se utiliza agentes antimicrobianos para su cuidado y crianza; puesto que el incremento en el uso de antibióticos

propicia el aumento de multirresistencia en patógenos como *Aeromonas*, esto representa un riesgo potencial para la salud pública (10).

### Factores de virulencia

Algunas especies de *Aeromonas* poseen diversos factores de virulencia estructurales (Figura). La capa S de *A. salmonicida* tiene actividad antifagocítica, aumenta la adherencia al hospedero, y congestiona los vasos sanguíneos hepáticos (11); los pili de tipo

IV participan en la adherencia a células epiteliales, colonización y la formación de las biopelículas. Los pili formadores de haces son considerados importantes factores de colonización en *Aeromonas* spp., porque forman redes o haces filamentosos, biopelículas y favorecen la agregación bacteriana (6). El flagelo está involucrado en la adhesión a la célula, colonización del tejido intestinal y promueve la glicosilación (12).



**Figura.** Enz: enzimáticos; Est: estructurales; Exc: extracelulares; LPS: lipopolisacáridos; SST2: sistema de secreción tipo 2; SST3: sistema de secreción tipo 4; SST2: sistema de secreción tipo 4; SUH: sistemas de unión al hierro. Entre paréntesis se presentan los genes que codifican: *ahsA*: subunidad de la capa S; *spsD*: proteína S; *tapA*: pili de clase A; *tapBCD*: subunidades formadoras de Pili; *aexT*: toxina AexT; *flmABD*: flagelina; *aerA*: enzima proteolítica tipo aerolícinas; *hlyA*, *ahn*: enzima proteolítica tipo hemolisina; *eprCAI*: proteasa extracelular termosensible; *ahn*: enzima proteolítica tipo nucleasa (11); *gcat*: glicerofosfo-lípido colesterol aciltransferasa (GCAT); *ast*: enzima tipo enterotoxina termoestable; *alt*: enzima tipo enterotoxina termolábil; *ascF*: enzima del sistema fosfotransferasa II; *ascG*, *ascV*: represor insensible a glucósidos; *laf*: flagelo polar y lateral; *msh*: pilina; *exeB*: complejo proteico de membrana interna ExeAB; *exeD*: dominios periplásmicos de ExeB y ExeD (6); *ela*: enzima proteolítica tipo elastasa (17); *eno*: enzima proteolítica tipo enolasa (15); *stx*: enzima proteolítica tipo Shiga (2); *fgi*: glicosiltransferasa; *maf*: factor accesorio de motilidad (12); *aspA*: serina proteasa; *act*: enterotoxina citotóxica (4); *exu*: enzima proteolítica tipo DNasa (15); *traB*: transglicosilasa lítica; *traE*, *traJ*, *traK*: SST4 (20); *iro*, *iuc*: sideróforos aerobactina y enterobactina (18).

La patogénesis de *Aeromonas* incluye factores de virulencia enzimáticos (Figura), como las aerolisinas que causan lisis osmótica, inflamación de granulocitos, hemólisis y puede producir septicemia (3,4). Las exotoxinas inhiben la formación de proteínas y degeneran criptas, así como vellosidades del intestino delgado, lo que causa síntomas como diarrea (13). Las nucleasas (DNAsas) son enzimas que inhiben a los neutrófilos, la fagocitosis, la quimiotaxis; además aumentan la invasividad bacteriana y forman biopelículas (14,9). Las enolasas degradan proteínas del plasma y funcionan como proteína de choque térmico (4,15).

Las enterotoxinas, se dividen en citotónicas termolábiles y termoestables, inducen un aumento del AMPc y de prostaglandinas en las células del íleon y provocan la diarrea secretora en peces y humanos (6). Las elastasas degradan el colágeno tipo III y IV, destruyen la membrana basal, y permiten la entrada de la bacteria a través del tejido dérmico (16, 17). Las proteasas secuestran nutrientes y evaden la respuesta inmune en peces. Las lipasas frenan el sistema inmune humano y coadyuvan en la resistencia a antibióticos (9). Las hemolisinas son enzimas multifuncionales que generan lisis celular incompleta y destruyen eritrocitos (13). La toxina Shiga inhibe la síntesis de proteínas, provoca muerte celular, colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico en humanos (4). Los lipopolisacáridos (LPS) degradan moléculas complejas e inactivan la respuesta inmune del huésped (12).

Los factores de virulencia extracelulares en *Aeromonas* (Figura) incluyen a los sideróforos que presentan una alta afinidad por los iones ferrosos presentes en la sangre de mamíferos, peces, insectos y minerales del medio ambiente (6, 18). También los sistemas de secreción (SST), como el tipo II, participa en la adhesión e invasión al huésped, la necrosis tisular y es crucial para la supervivencia bacteriana en el ambiente (16). El SST3 se encuentra frecuentemente en aislados clínicos en comparación con los ambientales, inyecta toxinas efectoras en las células huésped, daña la fisiología celular y la fagocitosis en peces y humanos (19). El SST4 transporta ADN y proteínas, biomoléculas

importantes en la conjugación bacteriana (6, 20), y el SST6 permite la inyección de factores de virulencia en las células de humanos y peces a través de las proteínas G (11).

Las vesículas de membrana externa (OMV) transportan factores de virulencia, transfieren ADN, presentan actividad antibacteriana e inmunomodulación del huésped. En *A. hydrophila* las OMV acarrean factores de virulencia, generan citotoxicidad en células mononucleares de la sangre, activan linfocitos B e influyen en el arreglo del citoesqueleto (21).

### Biopelícula

Las biopelículas bacterianas son grupos de células englobadas en una matriz de exopolisacárido producidas por las bacterias que constituyen la biopelícula, para adherirse a una superficie, esta estructura ofrece ventajas como la protección contra antibióticos, desecación y radiación UV. *A. hydrophila* forma biopelícula y le permite resistir a antibióticos betalactámicos, tetraciclinas y macrólidos (22). *Aeromonas* emplea a los flagelos, los LPS, polisacáridos de superficie, la quimiotaxis y los transportadores de  $Mg^{2+}$  para formar las biopelículas (14).

*Aeromonas* spp. forma biopelícula sobre acero inoxidable, cobre, polibutileno, caucho y las tuberías de distribución de agua potable (3), esto genera preocupación para la salud pública, debido a que pueden contener diferentes especies bacterianas patógenas, y proporciona un sistema de circulación de nutrientes, agua y DNA libre para realizar la transferencia horizontal genético en la biopelícula de *Aeromonas* (23).

La formación de biopelícula está regulada por QS, el cual confiere a las bacterias la capacidad de liberar, detectar, responder y monitorear su densidad celular, mediante la liberación de las moléculas señal o autoinductoras (24), en las bacterias Gram negativas las moléculas señal son principalmente lactonas de homoserina aciladas (AHL), el autoinductor interactúa con el regulador de respuesta y ejercen regulación génica de diversos procesos fisiológicos,



cuando la bacteria detecta altas poblaciones en el medio ambiente (25).

En *A. hydrophila* se han descrito tres sistemas de QS con su correspondiente autoinductor, el sistema tipo 1 (AI-1) reconoce a los autoinductores: N-butanoil homoserina lactona (C4-AHL) y N-hexanoil homoserina lactona (C6-AHL) (26), el sistema tipo 2 LuxS (AI-2) detecta 4,5-dihidroxi-2,3-pentanodiona (4,5-DPD), la homocisteína y varias furanonas (24) y el sistema tipo 3 QseBC (AI-3) reconoce a una N-acil homoserina lactona (11).

En *A. hydrophila* el sistema AI-1 regula la expresión de los genes que codifican exoproteasa, hemolisina, amilasa, ADNasa, la capa S y la maduración de la biopelícula (23). Para *A. salmonicida* el sistema AI-2 regula al gen *vapA* que expresa la proteína de la capa A, que protege a la bacteria del sistema inmune (6). En *A. hydrophila* el sistema AI-3 (QseB) regula la motilidad de natación y enjambre, la formación de biopelículas y la hemólisis (11).

### Transferencia horizontal de genes

Las bacterias adquieren variabilidad genética con la transferencia horizontal de ADN, en consecuencia, presentan nuevos fenotipos como la resistencia a antibióticos, los metales pesados, la patogenicidad, la simbiosis y la capacidad de metabolizar nuevos sustratos; además contribuye en su evolución y adaptación a distintos ambientes (27, 28).

El agua facilita la transferencia de genes de resistencia a antibióticos entre bacterias (29). Los plásmidos, integrones, transposones, cassettes de resistencia a antibióticos asociados a integrones, bacteriófagos y secuencias de inserción constituyen los elementos genéticos móviles (MGE). *Aeromonas* spp. presentan diversos MGE, lo que explica su plasticidad genómica, la resistencia a quinolonas (30), adquisición de virulencia y adaptación a diversos ambientes (21).

La capacidad de *Aeromonas* spp. para transferir genes de resistencia se evidenció con *A. hydrophila* (aislada de una granja de tilapia) que presentó los genes de resistencia *blaOXA-10* y *aadA1* albergados en el plásmido pR148, estos mostraron un 100 % de

similitud con los genes del genoma de *Acinetobacter baumannii* que es un patógeno humano (20).

La transferencia genética en *Aeromonas* procede por conjugación y transformación principalmente. Se evidenció que *Aeromonas* transfirió genes de resistencia a betalactamasas a *Escherichia coli*, mediante los plásmidos R, presentes en diferentes especies de *Aeromonas* (4).

### Mecanismos de resistencia a antibióticos

*Aeromonas* es resistente a los  $\beta$ -lactámicos, porque producen enzimas extracelulares tipo:  $\beta$ -lactamasa, acilasa y penicilinasas; que hidrolizan el enlace amida del anillo  $\beta$ -lactámico, lo que limita la permeabilidad de las membranas citoplasmáticas a estos antibióticos (31).

*Aeromonas* produce tres tipos de  $\beta$ -lactamasas, una cefalosporinasa clase C, una penicilinasas clase D y una metalo- $\beta$ -lactamasa de clase-B (MBL), codificadas por los genes *blaIMP*, *blaCphA/IMIS*, *blaTEM* y *blaSHV*, respectivamente (30). En *A. hydrophila* se encontraron varias  $\beta$ -lactamasas de clase C, como CepS y CepH (32).

*Aeromonas* posee genes que codifican  $\beta$ -lactamasas y estos se albergan en los MGE, como los genes *blaCTX-M-3* y *blaTEM-1* que forman parte los integrones clase 1 (31); los genes *blaPER-1* localizados en el transposón Tn5393k (25). También, el gen *blaKPC-2* encontrado en los plásmidos pASP-135, pS44-1 y pWCX23\_1 (33); y el gen *blaAFM-1* ubicado en el plásmido pSS332-218k (5).

*Aeromonas enteropelogenes* (acuáticas) *A. hydrophila*, *A. jandaei*, *A. caviae* producen la metalo- $\beta$ -lactamasa CphA, esta enzima hidroliza selectivamente los penems y carbapenémicos y no reconoce a las penicilinas y cefalosporinas (32).

En bacterias Gram negativas, incluida *A. hydrophila*, la resistencia a las quinolonas se debe a mutaciones de los genes cromosómicos *gyrA* y *parC* que codifican las enzimas ADN girasa y topoisomerasa IV (10, 34).

Las bombas de flujo participan en la expulsión de sustancias tóxicas para la bacteria, incluidos múltiples fármacos (MDR) tipo antibióticos (21). Se clasifican en cinco familias: la división de nodulación

de sustancias (RND), superfamilia de facilitadores Principales (MFS), cassette de unión de ATP (ABC), familia de resistencia (SMR) y obstrucción de compuestos tóxicos y múltiples fármacos (35). Con la secuenciación del genoma de *A. hydrophila* se encontraron 10 sistemas tipo RND, entre los cuales está el sistema AheABC involucrado en el fenotipo MDR y en la resistencia intrínseca a pristinamicina y trimetoprima (36).

Por otra parte, un estudio proteómico correlacionó la resistencia a oxitetraciclina de *A. hydrophila* ATCC 7966, con el incremento de la expresión de genes implicados en el metabolismo de manitol y las bombas de eflujo (Tabla 1), en comparación con la cepa sensible; además se observó una disminución en la regulación de los genes implicados en el metabolismo de sulfuro (37).

**Tabla 1.** Correspondencia entre la resistencia a antibióticos y las vías metabólicas bacterianas.

Especie de <i>Aeromonas</i>	Hospedero	Resistencia documentada	Condición ambiental en el que se evaluó la resistencia	Mecanismo de resistencia	Vía metabólica implicada o relacionada	Elementos genéticos que confieren la resistencia	Referencia
<i>A. hydrophila</i> ATCC 7966	Peces	Oxitetraciclina	Método <i>in vitro</i> a 30 °C con la concentración inhibitoria mínima (MIC) para OXY de 2,5 µg/ml.	Bombas de eflujo	Incremento del metabolismo del manitol Disminución del metabolismo del azufre	<i>AHA_0549</i> , <i>AHA_0550</i> , <i>AHA_0551</i> (met manitol) <i>Hcp</i> , <i>hmp</i> y <i>luxS</i> (met azufre) <i>AHA_0021</i> , <i>AHA_0022</i> , <i>AHA_0023</i> (BE)	37, 24
<i>A. hydrophila</i> ATCC 7966	Peces	Oxitetraciclina	Método <i>in vitro</i> a 30 °C se indujo con la concentración inhibitoria mínima, una cepa OXY-R	Bombas de eflujo	Biosíntesis de ácidos grasos, quimiotaxis y metabolismo central	<i>tet</i> (BE) <i>AHA_1280</i> , <i>AHA_2699</i> , <i>AHA_4281</i> , <i>AHA_2766</i> (OMP)	38, 39
<i>A. veronii</i> <i>Δhfq</i>	Peces	Trimetoprima	Método <i>in vitro</i> a 30 °C. Gradiente de concentración: 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0,5, 0,25 y 0,125 mg/ml	Bombas de eflujo	Disminución del metabolismo de purina	<i>hfq</i> <i>acrA</i> <i>acrB</i>	40
<i>A. hydrophila</i>	Peces	Penicilina y ampicilina	Determinación por el método de microdilución en caldo, CLSI (2016) a 28°C	β-lactamasa	Metabolismo del carbono, metabolismo del propanoato, glucólisis / aluconeogénesis, biosíntesis de metabolitos secundarios	<i>acnB</i> , <i>AHA_3059</i> , <i>pckA</i> , <i>gcvT</i> , <i>pyk-3</i> , <i>gap-2</i> , <i>cysK</i> (met carbono) <i>crr</i> (GG) <i>AHA_2415</i> (met propanoato)	41

Especie de <i>Aeromonas</i>	Hospedero	Resistencia documentada	Condición ambiental en el que se evaluó la resistencia	Mecanismo de resistencia	Vía metabólica implicada o relacionada	Elementos genéticos que confieren la resistencia	Referencia
<i>A. caviae</i> SCAC2001	Humano	Betalactámicos, aminoglucósidos, fluoroquinolonas, sulfonamida, trimetoprima y colistina	Determinación por el método de microdilución en caldo (CLSI 2013, M100-S23), y los puntos de corte de colistina se interpretaron de acuerdo con EUCAST	β-lactamasa	Metabolismo secundario (péptidos sintetasas no ribosómicas (nrps), hserlactona y bacteriocina)	<i>blaKPC</i> , <i>blaCTX</i> , <i>blaTEM</i> , <i>blaOXA</i> , <i>blaVEB</i> , <i>blaMOX</i> <i>aac(6)-Ib-cr</i> , <i>catB3</i> , <i>sull1</i> , <i>dfrA5</i> , <i>mcr-3.3</i>	42
<i>A. veronii</i> C4	Peces	Cefotaxima	Método <i>in vitro</i> a 30 °C, El medio se complementó con 50 µg/ml de ampicilina. Se agregó GlcNAc	β-lactamasa	Aumento del metabolismo del azúcar amino y del azúcar nucleósido y los metabolitos: GlcNAc y L-arabinosa	<i>nagE</i> , <i>nagB</i> , <i>nagA</i> y <i>nagC</i> ( <i>GlcNAc</i> ) <i>murC</i> , <i>murD</i> , <i>murE</i> , <i>murF</i> , <i>mrcB</i> , <i>mrcA</i> y <i>ftsI</i> (β-lactamasa)	43
<i>A. hydrophila</i> ATCC 7966 <i>ΔyeeY</i>	Peces	Furazolidona, betalactámicos y tetraciclinas	Método <i>in vitro</i> a 30 °C, a 200 rpm con una concentración final de 1,5 µg/ml furazolidona	Bombas de eflujo	Metabolismo del carbono, azufre, y piruvato	<i>AHA_3222</i> , <i>AHA_3753</i> , <i>cysN</i> y <i>secD</i> (met azufre) <i>AHA_3222</i> (BE) <i>AHA_2766</i> , <i>AHA_4275</i> , <i>cysD</i> y <i>mrcA</i> (VM)	44
<i>A. hydrophila</i> ATCC 7966	Peces	Clortetraciclina	Método <i>in vitro</i> en concentraciones de CTC de 40 y 640 µg/ml	Bombas de eflujo	Metabolismo del carbono, piruvato, alanina, aspartato y glutamato	<i>AHA_2989</i> , <i>mrcA</i> (BE) <i>AHA_1167</i> <i>AHA_1215</i> <i>AHA_0495</i> <i>AHA_1670</i> <i>AHA_0628</i>	45

Significado de siglas: met: metabolismo; BE: bombas de eflujo; OMP: proteínas de la membrana externa; GG: glucólisis/gluconeogénesis; VM: vías metabólicas; CTC: clortetraciclina

En *Aeromonas* el gen *tet(E)* codifica una bomba de eflujo para tetraciclina; localizado en el transposón Tn6433 que confiere resistencia a oxitetraciclina, secuencias similares a Tn6433-*tet(E)* se encontraron en los cromosomas y algunos plásmidos, lo que sugiere que Tn6433 controla la transposición de *tet(E)* del cromosoma al plásmido pAeca2 y promueve la diseminación de este gen (26).

*A. hydrophila* ATCC 7966 contiene proteínas de membrana plasmática de la familia TetR (*AHA\_0023*), con actividad de resistencia a acriflavina, son homólogas a la bomba de eflujo AheABC, expresada por el gen *AHA\_0022*, la proteína regula transcripcionalmente el metabolismo general (Tabla 1), QS y la resistencia a antibióticos, se sugirió que estos cambios metabólicos podrían contribuir con la resistencia a antibióticos (37).

En *A. hydrophila* se describió una elevada expresión de tres genes putativos *AHA0021*, *AHA1320* y *AheB*, que codifican las bombas de salida tipo RND, con base en la traducción *in silico*; en las cepas clínicas multiresistente en comparación con la cepa ambiental. Se confirmó que las bombas de eflujo RND reducen las concentraciones de piperacilina/tazobactam, imipenem, eritromicina y polimixina, lo que explicó la multiresistencia de *A. hydrophila* (46).

Asimismo, en *A. hydrophila* se reportó que el sistema TonB proporciona la resistencia a macrólidos, la inactivación de TonB inhibe la expulsión del antibiótico mediada por la bomba de eflujo MacA2B2 (47).

Se reportó en *A. veronii* que el gen *Hfq* regula de forma positiva la expresión de las bombas de eflujo que expulsan trimetoprima y la degradación de adenosina y guanosina (Tabla 1), la complementación de la mutante *Hfq* con los genes *acrA* y *acrB* (que codifican las bombas de eflujo) recuperaron la resistencia a trimetoprima (42).

Las vesículas de membrana externa (OMV) son un mecanismo de resistencia a antibióticos

novedoso en especies de bacterias Gram negativas, en *A. hydrophila* las OMV están relacionadas con la resistencia a oxitetraciclina (48). A partir de *A. veronii*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter cloacae* y *E. coli* se obtuvieron OMV que transportaron el plásmido pLC291 (con genes de resistencia a kanamicina). Las OMV se transfirieron a estos mismos géneros en su carácter de receptores, la velocidad mayor de transferencia la presentó *A. veronii* y la velocidad superior de recepción la obtuvo *P. aeruginosa* en comparación con los otros géneros (49).

### Resistencia a antibióticos de *Aeromonas*

La información descrita en este trabajo sugiere una relación entre la presencia de genes, la actividad bioquímica y la influencia del medio ambiente con el incremento de la resistencia a antibióticos del género *Aeromonas*.

*Aeromonas* spp. se consideran intrínsecamente resistente a amoxicilina/clavulánico, eritromicina y estreptomina (50). Las cepas de *Aeromonas* aisladas de heridas infectadas presentaron resistencia cromosómica o intrínseca a ampicilina y amoxicilina y el tratamiento con estos antibióticos fue ineficaz (51). También, se observó que en la mayoría de los aislados de *Aeromonas* a partir de agua para beber y residuales presentaron resistencia intrínseca a amoxicilina (52). Asimismo, se reportó la resistencia intrínseca a betalactámicos por la presencia del gen *blaSHV-01* en el 68% de las cepas de *Aeromonas* (30), lo que refuerza que este género es intrínsecamente resistente a betalactámicos.

Varios estudios evaluaron la resistencia a antibióticos de *Aeromonas* patógenas de peces, mamíferos y aislados ambientales (Tabla 2). En los últimos años *A. hydrophila* ha registrado cambios e incremento en la resistencia a antibióticos; esto sugiere la participación de proteínas de diferentes vías metabólicas (Tabla 1) que juegan un papel importante en la resistencia a antibióticos (41).



**Tabla 2.** Resistencia a antibióticos de algunos aislados de *Aeromonas* documentadas en los últimos 15 años.

Especie	Fuente o aislamiento	Genes	Resistencia a antibióticos	Referencia
<i>A. hydrophila</i>	Peces enfermos cultivados	<i>ispE, dxs, ndk, fadA</i>	Penicilina, ampicilina, estreptomycin, gentamicina	41
<i>A. hydrophila</i> RYU-N-27	Paciente hospitalizado	<i>intI1, blaGES-24, aac(6')-Iic, qacEdelta1, sull, orfX, tetR, tetE</i>	Azitromicina, cefepima, cefmetazol, cefotaxima, Imipenem, Meropenem, Moxalactama, Penicilina	53
<i>A. hydrophila</i> SS332	Aislado clínico humano	<i>bla PER-3, mphA, bla MOX-7, bla OXA-427, aadA16, mcr-7.1, bla AFM-1, bla OXA-1, msr(E), mph(E), aac(6')-Ib10 y aph(3')-Ia</i>	Penicilinas, monobactámicos, cefalosporinas, ampicilina, cefazolina, ceftriaxona, aztreonam, espectinomicina y roxitromicina	5
<i>A. hydrophila</i>	Peces (Anguilas, ciprínidos y percas)	<i>-tetA, tetD, tetE, cat, floR, qnrB, qnrS strA-strB y aac(6')-Ib</i>	Tetraciclina, florfenicol, enrofloxacin, aminoglucósido y gentamicina	54
<i>A. veronii</i>	Peces (Anguilas, ciprínidos y percas)	<i>tetA, tetD, tetE, cat, floR, qnrB, qnrS</i>	Tetraciclina, florfenicol, quinolona y enrofloxacin	54
<i>A. veronii</i>	Aislado clínico	<i>mcr-3, bla OXA12 y blaCEPH-A3</i>	Colistina y betalactámicos	55
<i>A. veronii</i> Ae52	Riñón de pez dorado	<i>strB, aph(3')-la, aadA2, strA, mph(A), sulfI, tet, blaOXA, blaCEPH, catA2, catB1</i>	Betalactámicos, aminoglucósidos, sulfonamidas, cloranfenicoles, tetraciclinas, fluoroquinolonas, macrólidos y nitrofuranos	56
<i>A. veronii</i>	Aislado clínico humano	<i>cphA</i>	Ampicilina ampicilina-sulbactam y amoxicilina-ácido clavulánico	57
<i>A. salmonicida</i>	Peces (salmón Atlántico)	<i>floR, sul2, tetA, tetR, tet(H), tet(Y), y strB</i>	Tetraciclina, sulfonamida, estreptomycin, espectinomicina, cloranfenicol y florfenicol	58
<i>A. salmonicida</i> SHY16-3432	Peces enfermos (trucha)	<i>tetA, tetR, sull, aadA2, blaPSE-1, tetG, tetC y floR</i>	Tetraciclina, sulfonamidas, estreptomycin-espectinomicina, ampicilina-carbenicilina, florfenicol-cloranfenicol,	59

Espece	Fuente o aislamiento	Genes	Resistencia a antibióticos	Referencia
<i>Aeromonas</i> spp.	Aislados ambientales	<i>gyrA</i> , <i>parC</i> , <i>qnrS</i> , <i>aac(6')-ib-cr</i> , <i>cphA</i> y <i>blaTEM</i>	Betalactámico, penicilina, ticarcilina, cefalotina, meropenem, ácido nalidíxico, quinolonas y sulfametoxazol- trimetoprima	52
<i>Aeromonas</i> spp.	Aislado clínico humano	<i>blaTEM</i> , <i>blaSHV</i> , <i>blaCTX-M</i> , <i>tetAB</i> , <i>tetE</i> , <i>qnrAB</i> , <i>qnrS</i> , <i>sul1</i> , <i>sul2</i> , <i>armA</i> , <i>aphAI-IAB</i> , <i>aac(3)-</i> <i>Ila</i> , <i>aac(6')-Ib</i> y <i>mcr1234</i>	Aminoglucósidos, β-lactámicos, sulfonamidas, colistina, tetraciclina, cefepima y ciprofloxacina	17
<i>Aeromonas</i> spp.	Almejas	<i>blaTEM</i> , <i>blaSHV</i> , <i>blaCTX-M</i> , <i>blaIMP</i> , <i>blaOXA</i> , <i>tetAB</i> , <i>tetE</i> , <i>qnrAB</i> , <i>qnrS</i> , <i>strA-</i> <i>strB</i> , <i>aphAI-IAB</i> , <i>aac(3')-Ila</i> y <i>aac(6')-</i> <i>Ib</i>	Ampicilina, carbapenémicos, cefalosporinas, tetraciclina, quinolonas, aminoglucósidos y trimetoprima- sulfametoxazo	60
<i>Aeromonas</i> spp.	Aislados de peces (trucha arco iris), agua de estanque y biopelículas	<i>qnrA</i> , <i>qnrB</i> , <i>aac6Ib</i> <i>01</i> , <i>aac6Ib02</i> , <i>tetB2</i> , <i>tetC-02</i> , <i>tetD-02</i> , <i>tetG-02</i> , <i>tetM1</i> , <i>dfrA1-</i> <i>1</i> , <i>dfrA1-2</i> , <i>sul1</i> , <i>strB</i> , <i>flor-1</i> , <i>mexF</i> , <i>blaSHV-01</i> , <i>bla-IMP2</i> y <i>bla-KPC3</i>	Quinolonas, tetraciclina, sulfonamida-trimetoprima, florfenicol, polimixina, β-lactámicos, oxitetraciclina, enrofloxacina, colistina, ácido oxolínico, flumequina y trimetoprima- sulfametoxazo	30
<i>Aeromonas</i> spp.	Pacientes pediátricos	<i>sul1</i> , <i>aadA1</i> , <i>aadA2</i> , <i>dfrA17</i> , <i>blaSHV</i> , <i>blaTEM</i> , <i>blaIMP</i> , <i>blaMIS-cphA</i>	Penicilina, ampicilina, oxacilina, amoxicilina- clavulanato, cefalotina, imipenem, rifampicina, lincosaminas, eritromicina, polimixina, aminoglucósidos y quinolonas	61

Las resistencias se dan por lo genes: *mexF*, *bla*: betalactámicos; *tet*: tetraciclinas; *aadA*: estreptomicina; *flor*: florfenicol; *sul*: sulfonamidas; *dfr*: trimetoprima; *aac*, *aph*, *armA*, *ispE*, *dxs*, *ndk*, *fadA*; aminoglucósido; *qnr*: quinolonas; *mcr*: colistina; *gyr*, *par*: fluoroquinolonas; *str*: estreptomicina; *cat*: cloranfenicol; *mph*: macrólidos.

Cepas de *Aeromonas* aisladas de sangre presentaron resistencia a betalactámicos como las penicilinas, cefalosporinas (Tabla 2), y carbapenémicos (53), esto concuerda con la resistencia a betalactámicos observada en aislados clínicos intestinales y extraintestinales de *Aeromonas* spp., además de la resistencia a tetraciclinas (62) y aminoglucósidos (63).

En contraste, en *A. salmonicida* aislada de salmón del Atlántico, cultivado en agua dulce (realizado en el periodo 2016 a 2018), se identificó el gen *cat* contenido en el plásmido pAsa7, que confiere la resistencia a cloranfenicol. Los aislados evaluados en 2019 mantuvieron el plásmido y la resistencia a cloranfenicol; sin embargo, se observaron mutaciones cromosómicas y presentaron resistencia a ciprofloxacina y ofloxacina, esto sugiere que la bacteria se modifica genéticamente y por ende el perfil de resistencia (64).

Por otra parte, los aislados ambientales de *Aeromonas* spp. presentaron mayor resistencia a betalactámicos (amoxicilina, ampicilina, penicilina) y a lincosamidas (clindamicina); este patrón fue similar a lo reportado en cepas clínicas de humanos, la diferencia es que ninguna de las cepas ambientales mostró resistencia a estreptomina y gentamicina (31).

En contraste, hay reporte de cepas ambientales multirresistentes, *A. hydrophila* mostró resistencia a ácido nalidíxico, cefalotina, ticarcilina, tetraciclina y sulfametoxazol; sin embargo, en los dos últimos antibióticos la resistencia fue menor a lo reportado en aislados clínicos de humanos (17), esto podría deberse a las diferentes presiones selectivas por el uso de antibióticos en humanos y ambientes acuáticos (52); además, se han registrado otros perfiles de resistencia de *Aeromonas* aislada de agua, el 40% de las cepas fueron resistentes a fosfomicina, ácido nalidíxico y cefotaxima, el 27% presentaron resistencia a gentamicina, tobramicina y cotrimoxazol. Asimismo, se encontró que más del 70% de los aislados fueron susceptibles a cloranfenicol, trimetoprim-sulfametoxazol y tetraciclina (1).

Dado que la colistina es considerada como el antibiótico de último recurso en medicina para el tratamiento de patógenos Gram negativos multirresistentes, la propagación de los genes *mcr* es preocupante porque confiere resistencia a colistina (65). Algunos aislados de *A. jandaei* obtenidos de agua para beber y residuales albergan a los genes *mcr-3* (52), esta especie puede ser un reservorio de los genes *mcr-3* y contribuir a la posible propagación en el agua, ambiente idóneo para transferir material genético entre diferentes especies de *Aeromonas* y géneros bacterianos (17).

La resistencia a antibióticos de diversas especies bacterianas es el resultado de la expresión de genes del resistoma, que incluye a los genes contenidos en los MGE y a los genes intrínsecos cromosómicos que codifican proteínas con actividad metabólica que pueden ser precursoras de genes de resistencia a antibióticos (28).

Otro elemento que favorece la multirresistencia bacteriana es la formación de las biopelículas, se detectó que el uso de antibióticos como florfenicol y la oxitetraciclina aumentaron la formación de biopelículas en *A. salmonicida* aislada de criaderos de peces, como mecanismo de respuesta a estrés ambiental (62). Las biopelículas de acuíferos recargados con aguas pluviales, donde se aislaron a *Aeromonas*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Shewanella* y *Vibrio*, presentaron genes de resistencia; cassette de unión a ATP, proteínas de expulsión de compuestos tóxicos, pequeñas bombas de eflujo y complejos de eflujo de múltiples fármacos. En *Pseudomonas* y *Aeromonas* se identificaron principalmente los genes que expresan betalactamasas; mientras que los genes que codifican la resistencia a la tetraciclina y vancomicina fueron encontrados en otros géneros, estos resultados sugieren que los microorganismos que crecen en biopelículas pueden servir como reservorio de cepas resistentes a diferentes antibióticos y transferir genes de resistencia entre géneros (21).

Por otra parte, se reveló que LuxS regula la resistencia a los antibióticos, la formación de la biopelícula, el metabolismo central y el QS mediante el sistema AI-2; en las cepas de *A. hydrophila* se

disminuyó la biosíntesis de LuxS con el tratamiento de 1 µg/ml de oxitetraciclina y el inhibidor LuxZ (-)-dimetil(-)-2,3-O-isopropiliden-l-tartrato, y se observó una baja en la tasa de crecimiento de la bacteria (24).

La OMS ha identificado el cambio climático como uno de los principales causantes de las enfermedades infecciosas emergentes a nivel mundial, en estudios poblacionales se observaron que las variaciones de temperatura (66) podrían modificar y acelerar la resistencia a varios antibióticos, asimismo, se documentó que el incremento de 10 °C, puede aumentar la resistencia a los antibióticos en un 4.2%, 2.2% y 2.7%, en *E. coli*, *K. pneumoniae* y *S. aureus*, respectivamente (67); por lo anterior, existe la preocupación de que otras bacterias Gram negativas como *Aeromonas* tengan un comportamiento similar.

En *Aeromonas* se sugiere un efecto bifásico de la temperatura y el pH ambiental; por una parte, el crecimiento de *Aeromonas* se ve favorecido en ambientes ácidos y este cambio se asoció a la modificación del perfil de resistencia antimicrobiana. Por otro lado, la temperatura afecta la transferencia horizontal de genes y las mutaciones *de novo* (incluida la recombinación), estos cambios ambientales podrían explicar las diferencias en la resistencia a los antibióticos, en ausencia de determinantes (MGE, mecanismos) de resistencia o presión antimicrobiana en el medio ambiente (66).

La tabla 2, muestra los resultados obtenidos de diversos estudios de resistencia en *Aeromonas*, lo que más destaca es la gran variedad de genes que confieren resistencia a betalactámicos y aminoglucósidos. Otra característica importante es la multiresistencia de los aislados clínicos humanas y patógenas de peces de *A. hydrophila* y *A. veronii* en comparación con aislados ambientales.

El género *Aeromonas* ha retomado cada vez más importancia debido a su amplia distribución y su capacidad de presentar nuevas resistencias a antimicrobianos; sin embargo, esta capacidad se le atribuye principalmente a su plasticidad genética y a la interacción con *E. coli*, *Pseudomonas* o *Salmonella*, en algunos estudios se identificó

similitudes genéticas de resistencia entre los géneros como: la bomba de eflujo AheB, los integrones *intI1-aadA1-qacEΔ1-Sul1*, *intI1-dfrA17-qacEΔ1-Sul1*; los plásmidos pEX-AheABC, pAr-32 y cassettes de genes como *drfA17*; y con ello se indica la transferencia horizontal genética entre estos géneros (15, 36).

En *Aeromonas* se han identificado gran variedad de genes de resistencia antimicrobiana adquirida, que codifican β-lactamasas, aminoglucósidos acetiltransferasas y bombas de expulsión localizados en plásmidos, también estos genes se identificaron en *Pseudomonas monteilii*, *Salmonella enterica* o *E. coli*, lo que sugiere la transferencia horizontal entre estas bacterias (34).

En la secuencia genómica de *A. hydrophila* NJ-35 se encontraron tres conjuntos de sistemas de transporte TonB, el sistema TonB1 es codificado por los genes *tonB1*, *exbB1* y *exbD1*; el sistema TonB2 transporta hierro y lo codifican los genes *tonB2*, *exbB2* y *exbD2* (reportado en *Vibrio cholerae* y *Vibrio anguillarum*), y los genes *exbB3-1-exbB3-2-exbD3-tonB3* codifican a TonB3 que participa en la fagocitosis. TonB1 y TonB2 se consideran bombas de eflujo bacterianas para macrólidos como eritromicina y roxitromicina (68); asimismo, el sistema de transporte TonB esta descrito en *Vibrio anguillarum*, *E. coli*, y el homólogo de la bomba en *P. aeruginosa* (27, 47).

La adquisición y presencia de MGE en *Aeromonas* es inquietante, porque se encontró el plásmido pAsa8 que contienen al Tn721 y un integrón complejo de clase 1, muy similar al integrón In104 localizado en *S. enterica* y *Proteus mirabilis*, que confiere resistencia a florfenicol-cloranfenicol (*floR*), tetraciclinas [*tet(G)*], sulfonamidas (*sul1*), ampicilina-carbenicilina (*blaPSE-1*) y estreptomina-espectinomicina (*aadA2*) en *A. salmonicida* (69).

Las cepas de *E. coli* aisladas de tilapia, bagre rayado y peces salvajes mostraron multiresistencia a betalactámicos como cefotaxima, meropenem y amoxicilina, por la presencia de los genes *blaCTX-M* (*CTX-M-1*, *CTX-M-2*, *CTX-M-8*), *blaTEM*; también son resistentes a sulfametoxazol-



trimetoprima porque contiene los genes *sul123*; y el gen *mcr* codifica la resistencia a colistina (65), algunos de estos genes de *E. coli* son compartidos con *Aeromonas*, como *blaCTX-M*, *blaTEM*, *sul12*, y el gen *sul3* (31). De igual forma, la presencia del gen *mcr* en *P. monteilii*, *S. enterica* y *E. coli* está vinculado con *Aeromonas*; este género posee el homólogo de *mcr*, contenido en los plásmidos y los genomas, esto sugiere que las tres bacterias podrían ser la fuente de transmisión de este gen de resistencia (34).

Las resistencias a betalactámicos de *Citrobacter freundii*, *E. coli*, *A. veronii* y *A. hydrophila* aislados a partir de agua y sanguijuelas, se correlacionó con la presencia de los genes que codifican las  $\beta$ -lactamasas; en ambas especies de *Aeromonas* se identificaron los genes *blaTEM-1* y *blaSHV-1*, mientras que *E. coli* presentó únicamente el gen *blaTEM-1* y *C. freundii* el gen *blaSHV-1* (29). Las evidencias generadas en los estudios antes mencionados sustentan la transferencia horizontal de genes de resistencia a antibióticos de *Aeromonas* con otros géneros bacterianos.

## CONCLUSIONES

En esta revisión se ha compilado, descrito y comparado las características similares, así como se puntualizaron las diferencias metabólicas de *A. hydrophila*, *A. salmonicida* y *A. veronii* como patógenos oportunistas que presentan una gran variedad de factores de virulencia de tipo estructural, enzimático y extracelular, por lo que estas bacterias pueden representar un riesgo para la salud de organismos inmunodeprimidos, incluido el hombre.

Una característica importante de *Aeromonas* es la resistencia intrínseca a betalactámicos; además de la resistencia a tetraciclinas y aminoglucosidos, que es sustentada por la presencia de bombas de eflujo, enzimas inactivadoras de antibióticos, vesículas de membrana externa y la participación del metabolismo central que contribuyen a la resistencia a diferentes clases de antibióticos, cabe resaltar que la resistencia a colistina es la más preocupante, porque es considerada como un antibiótico de último recurso.

La transferencia horizontal de genes le permite a *Aeromonas* adquirir o transferir diferentes genes de resistencia a otras especies o géneros como *E. coli*, *Vibrio*, *Pseudomonas* o *Salmonella*, este proceso es facilitado por las biopelículas, incremento de la temperatura y pH ácido, estos procesos favorecen la multiresistencia en *Aeromonas*.

Es de suma importancia generar conciencia respecto al uso indiscriminado de antibióticos en ambientes acuáticos, crianza de peces y administración en humanos, porque se ha descrito que contribuye con la multiresistencia a antibióticos en bacterias incluida *Aeromonas*, lo que perfila a este género como un patógeno emergente y un riesgo para la salud pública.

## REFERENCIAS

- Gomes S, Fernandes C, Monteiro S, Cabecinha E, Teixeira A, Varandas S, et al. The role of aquatic ecosystems (River Tua, Portugal) as reservoirs of multidrug-resistant *Aeromonas* spp. *Water*. 2021 Mar 5;13(5):698. <https://doi.org/10.3390/w13050698>
- Lee HJ, Hoel S, Lunestad BT, Lerfall J, Jakobsen AN. *Aeromonas* spp. isolated from ready-to-eat seafood on the Norwegian market: prevalence, putative virulence factors and antimicrobial resistance. *Journal of Applied Microbiology*. 2021 Apr;130(4):1380-93. <https://doi.org/10.1111/jam.14865>
- Dong J, Zhang L, Liu Y, Xu N, Zhou S, Yang Q, et al. Thymol protects channel catfish from *Aeromonas hydrophila* infection by inhibiting aerolysin expression and biofilm formation. *Microorganisms*. 2020 Apr 27;8(5):636. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050636>
- Bhowmick UD, Bhattacharjee S. Bacteriological, Clinical and Virulence Aspects of associated Diseases in Humans. *Polish Journal of Microbiology*. 2018 Jun 30;67(2):137-50. <https://doi.org/10.21307/pjm-2018-020>
- Lin X, Lu J, Qian C, Lin H, Li Q, Zhang X, et al. Molecular and Functional Characterization of a Novel Plasmid-Borne blaNDM-Like Gene, blaAFM-1, in a Clinical Strain of *Aeromonas hydrophila*. *Infection and Drug Resistance*. 2021; 14:1613. doi: 10.2147/IDR.S297419
- Pessoa RB, de Oliveira WF, Marques DS, dos Santos Correia MT, de Carvalho EV, Coelho LC. The genus *Aeromonas*: A general approach. *Microbial pathogenesis*. 2019 May 1; 130:81-94. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.02.036>

7. Organización Mundial de la Salud. Manual de Bioseguridad en el Laboratorio. Tercera Edición. OMS, 2005. <https://www.who.int/es/publications/item/9241546506>
8. Marinho-Neto FA, Claudiano GS, Yunis-Aguinaga J, Cueva-Quiroz VA, Kobashigawa KK, Cruz NR, et al. Morphological, microbiological and ultrastructural aspects of sepsis by *Aeromonas hydrophila* in *Piaractus mesopotamicus*. PLoS One. 2019 Sep 20;14(9):e0222626. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222626>
9. Hossain S, De Silva BC, Dahanayake PS, Heo GJ. Characterization of virulence properties and multi-drug resistance profiles in motile *Aeromonas* spp. isolated from zebrafish (*Danio rerio*). Letters in applied microbiology. 2018 Dec;67(6):598-605. <https://doi.org/10.1111/lam.13075>
10. Deng Y, Wu Y, Jiang L, Tan A, Zhang R, Luo L. Multi-drug resistance mediated by class 1 integrons in *Aeromonas* isolated from farmed freshwater animals. Frontiers in microbiology. 2016 Jun 15; 7:935. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00935>
11. Rasmussen-Ivey CR, Figueras MJ, McGarey D, Liles MR. Virulence factors of *Aeromonas hydrophila*: in the wake of reclassification. Frontiers in Microbiology. 2016 Aug 25; 7:1337.
12. Mendoza-Barberá E, Merino S, Tomás J. Surface Glucan Structures in *Aeromonas* spp. Marine Drugs. 2021 Nov 22;19(11):649. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01337>
13. Masuyer G. Crystal structure of exotoxin a from aeromonas pathogenic species. Toxins. 2020 Jun 15;12(6):397. <https://doi.org/10.3390/toxins12060397>
14. Wickramanayake MV, Dahanayake PS, Hossain S, Heo GJ. Antimicrobial resistance of pathogenic *Aeromonas* spp. isolated from marketed Pacific abalone (*Haliotis discus hannai*) in Korea. Journal of applied microbiology. 2020 Feb;128(2):606-17. <https://doi.org/10.1111/jam.14485>
15. Khor WC, Puah SM, Koh TH, Tan JA, Puthuchearry SD, Chua KH. Comparison of clinical isolates of *Aeromonas* from Singapore and Malaysia with regard to molecular identification, virulence, and antimicrobial profiles. Microbial Drug Resistance. 2018 May 1;24(4):469-78. <https://doi.org/10.1089/mdr.2017.0083>
16. Barger PC, Liles MR, Newton JC. Type II secretion is essential for virulence of the emerging fish pathogen, hypervirulent *Aeromonas hydrophila*. Frontiers in veterinary science. 2020 Sep 25; 7:574113. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.574113>
17. Shuang ME, Wang YL, LIU CG, Jing YA, Min YU, et al. Genetic diversity, antimicrobial resistance, and virulence genes of *Aeromonas* isolates from clinical patients, tap water systems, and food. Biomedical and Environmental Sciences. 2020 Jun 1;33(6):385-95. <https://doi.org/10.3967/bes2020.053>
18. Sidhu JP, Gupta VV, Stange C, Ho J, Harris N, Barry K, et al. Prevalence of antibiotic resistance and virulence genes in the biofilms from an aquifer recharged with stormwater. Water Research. 2020 Oct 15; 185:116269. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116269>
19. Origgi FC, Benedicenti O, Segner H, Sattler U, Wahli T, Frey J. *Aeromonas salmonicida* type III secretion system-effectors-mediated immune suppression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish & shellfish immunology. 2017 Jan 1;60:334-45. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.12.006>
20. Del Castillo CS, Hikima JI, Jang HB, Nho SW, Jung TS, Wongtavatchai J, et al. Comparative sequence analysis of a multidrug-resistant plasmid from *Aeromonas hydrophila*. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2013 Jan;57(1):120-9. <https://doi.org/10.1128/AAC.01239-12>
21. Avila-Calderón ED, Otero-Olarrá JE, Flores-Romo L, Peralta H, Aguilera-Arreola MG, Morales-García MR, Calderón-Amador J, Medina-Chávez O, Donis-Maturano L, Ruiz-Palma MD, Contreras-Rodríguez A. The outer membrane vesicles of *Aeromonas hydrophila* ATCC® 7966TM: a proteomic analysis and effect on host cells. Frontiers in Microbiology. 2018 Nov 16; 9:2765. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02765>
22. Thomas SG, Abajorga M, Glover MA, Wengert PC, Parthasarathy A, Savka MA, et al. *Aeromonas hydrophila* RIT668 and *Citrobacter portucalensis* RIT669—Potential Zoonotic Pathogens Isolated from Spotted Turtles. Microorganisms. 2020 Nov 17;8(11):1805. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111805>
23. Dias C, Borges A, Saavedra MJ, Simões M. Biofilm formation and multidrug-resistant *Aeromonas* spp. from wild animals. Journal of global antimicrobial resistance. 2018 Mar 1; 12:227-34. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.09.010>
24. Ali F, Yao Z, Li W, Sun L, Lin W, Lin X. In-silico prediction and modeling of the quorum sensing LuxS protein and inhibition of AI-2 biosynthesis in *Aeromonas hydrophila*. Molecules. 2018 Oct 12;23(10):2627. <https://doi.org/10.3390/molecules23102627>
25. Blöcher R, Rodarte Ramírez A, Castro-Escarpulli G, Curiel-Quesada E, Reyes-Arellano A. Design, Synthesis, and Evaluation of Alkyl-Quinoxalin-2 (1 H)-One Derivatives as Anti-Quorum Sensing Molecules, Inhibiting Biofilm Formation in *Aeromonas caviae* Sch3. Molecules. 2018 Nov 24;23(12):3075. <https://doi.org/10.3390/molecules23123075>
26. Jin L, Chen Y, Yang W, Qiao Z, Zhang X. Complete genome sequence of fish-pathogenic *Aeromonas hydrophila* HX-3 and a comparative analysis: insights into virulence factors and quorum sensing. Scientific

- reports. 2020 Sep 23;10(1):1-5. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72484-8>
27. Adamczuk M, Dziewit L. Genome-based insights into the resistome and mobilome of multidrug-resistant *Aeromonas* sp. ARM81 isolated from wastewater. *Archives of microbiology*. 2017 Jan;199(1):177-83. <https://doi.org/10.1007/s00203-016-1285-6>
  28. Shi Y, Tian Z, Gillings MR, Zhang Y, Zhang H, Huan J, et al. Novel transposon Tn 6433 variants accelerate the dissemination of tet(E) in *Aeromonas* in an aerobic biofilm reactor under oxytetracycline stresses. *Environmental Science & Technology*. 2020 May 8;54(11):6781-91. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c01272>
  29. Segatore B, Piccirilli A, Setacci D, Cicolani B, Di Sabatino A, Miccoli FP, et al. First Identification of  $\beta$ -Lactamases in Antibiotic-Resistant *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, and *Aeromonas* spp. Isolated in Stream Macroinvertebrates in a Central Italian Region. *Microbial Drug Resistance*. 2020 Aug 1;26(8):976-81. <https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0258>
  30. Hayatgheib N, Calvez S, Fournel C, Pineau L, Pouliquen H, Moreau E. Antimicrobial susceptibility profiles and resistance genes in genus *Aeromonas* spp. isolated from the environment and rainbow trout of two fish farms in France. *Microorganisms*. 2021 Jun 1;9(6):1201. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061201>
  31. Zdanowicz M, Mudryk ZJ, Perliński P. Abundance and antibiotic resistance of *Aeromonas* isolated from the water of three carp ponds. *Veterinary Research Communications*. 2020 Feb; 44(1):9-18. <https://doi.org/10.1007/s11259-020-09768-x>
  32. Bush K, Bradford PA. Epidemiology of  $\beta$ -lactamase-producing pathogens. *Clinical microbiology reviews*. 2020 Feb 26;33(2): e00047-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00047-19>
  33. Vega-Sánchez V, Latif-Eugenín F, Soriano-Vargas E, Beaz-Hidalgo R, Figueras MJ, Aguilera-Arreola MG, et al. Re-identification of *Aeromonas* isolates from rainbow trout and incidence of class 1 integron and  $\beta$ -lactamase genes. *Veterinary microbiology*. 2014 Aug 27;172(3-4):528-33. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.06.012>
  34. Nwaiwu O, Aduba CC. An in silico analysis of acquired antimicrobial resistance genes in *Aeromonas* plasmids. *AIMS microbiology*. 2020;6(1):75. doi: 10.3934/microbiol.2020005
  35. Seukep AJ, Kuete V, Nahar L, Sarker SD, Guo M. Plant-derived secondary metabolites as the main source of efflux pump inhibitors and methods for identification. *Journal of pharmaceutical analysis*. 2020 Aug 1;10(4):277-90. <https://doi.org/10.1016/j.jpaha.2019.11.002>
  36. Hernould M, Gagné S, Fournier M, Quentin C, Arpin C. Role of the AheABC efflux pump in *Aeromonas hydrophila* intrinsic multidrug resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2008 Apr;52(4):1559-63. <https://doi.org/10.1128/AAC.01052-07>
  37. Yu J, Ramanathan S, Chen L, Zeng F, Li X, Zhao Y, et al. Comparative transcriptomic analysis reveals the molecular mechanisms related to oxytetracycline-resistance in strains of *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture Reports*. 2021 Nov 1; 21:100812. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100812>
  38. Lin X, Lin L, Yao Z, Li W, Sun L, Zhang D, et al. An integrated quantitative and targeted proteomics reveals fitness mechanisms of *Aeromonas hydrophila* under oxytetracycline stress. *Journal of proteome research*. 2015 Mar 6;14(3):1515-25. <https://doi.org/10.1021/pr501188g>
  39. Yao Z, Sun L, Wang Y, Lin L, Guo Z, Li D, et al. Quantitative proteomics reveals antibiotics resistance function of outer membrane proteins in *Aeromonas hydrophila*. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2018 Nov 6; 8:390. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00390>
  40. Wang D, Li H, Ma X, Tang Y, Tang H, Huang D, et al. Hfq Regulates Efflux Pump Expression and Purine Metabolic Pathway to Increase Trimethoprim Resistance in *Aeromonas veronii*. *Frontiers in Microbiology*. 2021;12. doi: 10.3389/fmicb.2021.742114
  41. Zhu W, Zhou S, Chu W. Comparative proteomic analysis of sensitive and multi-drug resistant *Aeromonas hydrophila* isolated from diseased fish. *Microbial pathogenesis*. 2020 Feb 1;139: 103930. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103930>
  42. Tang L, Huang J, She J, Zhao K, Zhou Y. Co-Occurrence of the blaKPC-2 and Mcr-3.3 Gene in *Aeromonas caviae* SCAC2001 Isolated from Patients with Diarrheal Disease. *Infection and Drug Resistance*. 2020; 13:1527. doi: 10.2147/IDR.S245553
  43. Yu W, Li D, Li H, Tang Y, Tang H, Ma X, et al. Absence of tmRNA increases the persistence to Cefotaxime and the intercellular accumulation of metabolite GlcNAc in *Aeromonas veronii*. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2020 Feb 28; 10:44. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00044>
  44. Fu Y, Zhang L, Wang G, Lin Y, Ramanathan S, Yang G, et al. The LysR-type transcriptional regulator YeeY plays important roles in the regulatory of furazolidone resistance in *Aeromonas hydrophila*. *Frontiers in Microbiology*. 2020 Sep 9; 11:577376. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.577376>
  45. Li W, Ali F, Cai Q, Yao Z, Sun L, Lin W, et al. Quantitative proteomic analysis reveals that chemotaxis is involved in chlortetracycline resistance of *Aeromonas hydrophila*. *Journal of proteomics*. 2018 Feb 10; 172:143-51. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2017.09.011>
  46. Lo CC, Liao WY, Chou MC, Wu YY, Yeh TH, Lo HR. Overexpression of Resistance-Nodulation-Division Efflux Pump Genes Contributes to Multidrug Resistance



- in *Aeromonas hydrophila* Clinical Isolates. Microbial Drug Resistance. 2022 Feb 1; 28(2):153-60. <https://doi.org/10.1089/mdr.2021.0084>
47. Dong Y, Li Q, Geng J, Cao Q, Zhao D, Jiang M, et al. The TonB system in *Aeromonas hydrophila* NJ-35 is essential for MacA2B2 efflux pump-mediated macrolide resistance. Veterinary research. 2021 Dec;52(1):1-0. <https://doi.org/10.1186/s13567-021-00934-w>
48. Lin L, Wang Y, Srinivasan R, Zhang L, Song H, Song Q, Wang G, Lin X. Quantitative Proteomics Reveals That the Protein Components of Outer Membrane Vesicles (OMVs) in *Aeromonas hydrophila* Play Protective Roles in Antibiotic Resistance. Journal of Proteome Research. 2022 Jun 8. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.2c00114>
49. Tran F, Boedicker JQ. Genetic cargo and bacterial species set the rate of vesicle-mediated horizontal gene transfer. Scientific reports. 2017 Aug 18;7(1):1-0. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07447-7>
50. Grilo ML, Amaro G, Chambel L, Marques CS, Marques TA, Gil F, Sousa-Santos C, Robalo JJ, Oliveira M. *Aeromonas* spp. Prevalence, Virulence, and Antimicrobial Resistance in an Ex Situ Program for Threatened Freshwater Fish—A Pilot Study with Protective Measures. Animals. 2022 Feb 11;12(4):436. <https://doi.org/10.3390/ani12040436>
51. Onuoha, S. C. “Occurrence and Antibiotic Susceptibility of *Aeromonas* species from Piggery Farms in Ebonyi State, Nigeria Onuoha, S. C\*, Eronmosele, BO, 2 Okoh, FN, 2 Okafor, CO, 2 Onwere, CC 2 and Ovia, KN 2.” Nigerian Journal of Microbiology (2022). <https://orcid.org/0000-0002-6076-3910>
52. Figueira V, Vaz-Moreira I, Silva M, Manaia CM. Diversity and antibiotic resistance of *Aeromonas* spp. in drinking and waste water treatment plants. Water research. 2011 Nov 1;45(17):5599-611. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.08.021>
53. Uechi K, Tada T, Sawachi Y, Hishinuma T, Takaesu R, Nakama M, et al. A carbapenem-resistant clinical isolate of *Aeromonas hydrophila* in Japan harbouring an acquired gene encoding GES-24  $\beta$ -lactamase. Journal of Medical Microbiology. 2018 Nov 1;67(11):1535-7. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000842>
54. Woo SJ, Kim MS, Jeong MG, Do MY, Hwang SD, Kim WJ. Establishment of Epidemiological Cut-Off Values and the Distribution of Resistance Genes in *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas veronii* Isolated from Aquatic Animals. Antibiotics. 2022 Mar 5;11(3):343. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11030343>
55. Ragupathi NK, Sethuvel DP, Anandan S, Murugan D, Asokan K, Mohan RG, et al. First hybrid complete genome of *Aeromonas veronii* reveals chromosome-mediated novel structural variant mcr-3.30 from a human clinical sample. Access microbiology. 2020;2(4). doi: 10.1099/acmi.0.000103
56. Jagoda SD, Honein K, Arulkanthan A, Ushio H, Asakawa S. Genome sequencing and annotation of *Aeromonas veronii* strain Ae52, a multidrug-resistant isolate from septicemic gold fish (*Carassius auratus*) in Sri Lanka. Genomics Data. 2017 Mar 1; 11:46-8. <https://doi.org/10.1016/j.gdata.2016.11.011>
57. Prediger KD, Dallagassa CB, Moriel B, Vizzotto BS, Volanski W, Souza EM, et al. Virulence characteristics and antimicrobial resistance of *Aeromonas veronii* biovar *sobria* 312M, a clinical isolate. Brazilian Journal of Microbiology. 2020 Jun;51(2):511-8. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00180-5>
58. Vincent AT, Trudel MV, Paquet VE, Boyle B, Tanaka KH, Dallaire-Dufresne S, et al. Detection of variants of the pRAS3, pAB5S9, and pSN254 plasmids in *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*: multidrug resistance, interspecies exchanges, and plasmid reshaping. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2014 Dec;58(12):7367-74. <https://doi.org/10.1128/AAC.03730-14>
59. Massicotte MA, Vincent AT, Schneider A, Paquet VE, Frenette M, Charette SJ. One *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* isolate with a pAsa5 variant bearing antibiotic resistance and a pRAS3 variant making a link with a swine pathogen. Science of the Total Environment. 2019 Nov 10; 690:313-20. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.456>
60. Dahanayake PS, Hossain S, Wickramanayake MV, Heo GJ. Antibiotic and heavy metal resistance genes in *Aeromonas* spp. isolated from marketed Manila Clam (*Ruditapes philippinarum*) in Korea. Journal of applied microbiology. 2019 Sep;127(3):941-52. <https://doi.org/10.1111/jam.14355>
61. Bello-López JM, Sánchez-Garibay C, Ibáñez-Cervantes G, León-García G, Gonzalez-Avila LU, Hernández-Cortez C, et al. Genetic and phenotypic determinants of resistance to antibiotics in *Aeromonas* spp., strains isolated from pediatric patients. The Journal of Infection in Developing Countries. 2020 Oct 31;14(10):1146-54. <https://doi.org/10.3855/jidc.12966>
62. Zhou Y, Yu L, Nan Z, Zhang P, Kan B, Yan D, et al. Taxonomy, virulence genes and antimicrobial resistance of *Aeromonas* isolated from extra-intestinal and intestinal infections. BMC infectious diseases. 2019 Dec;19(1):1-9. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-3766-0>
63. Vincent AT, Intertaglia L, Loyer V, Paquet VE, Adouane É, Martin P, Bérard C, Lami R, Charette SJ. AsaGEI2d: a new variant of a genomic island identified in a group of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* isolated from France, which bears the pAsa7 plasmid. FEMS Microbiology Letters. 2021 Mar;368(4): fnab021. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnab021>



64. Desbois AP, Cook KJ, Buba E. Antibiotics modulate biofilm formation in fish pathogenic isolates of atypical *Aeromonas salmonicida*. *Journal of fish diseases*. 2020 Nov;43(11):1373-9. <https://doi.org/10.1111/jfd.13232>
65. Hoa TT, Nakayama T, Huyen HM, Harada K, Hinenoya A, Phuong NT, et al. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* harbouring *sul* and *mcr-1* genes isolates from fish gut contents in the Mekong Delta, Vietnam. *Letters in applied microbiology*. 2020 Jul;71(1):78-85. <https://doi.org/10.1111/lam.13222>
66. Grilo ML, Pereira A, Sousa-Santos C, Robalo JI, Oliveira M. Climatic Alterations Influence Bacterial Growth, Biofilm Production and Antimicrobial Resistance Profiles in *Aeromonas* spp. *Antibiotics*. 2021 Aug 20;10(8):1008. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10081008>
67. MacFadden DR, McGough SF, Fisman D, Santillana M, Brownstein JS. Antibiotic resistance increases with local temperature. *Nature Climate Change*. 2018 Jun;8(6):510-4. <https://doi.org/10.1038/s41558-018-0161-6>
68. Dong Y, Geng J, Liu J, Pang M, Awan F, Lu C, et al. Roles of three TonB systems in the iron utilization and virulence of the *Aeromonas hydrophila* Chinese epidemic strain NJ-35. *Applied microbiology and biotechnology*. 2019 May;103(10):4203-15. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09757-4>
69. Trudel MV, Vincent AT, Attéré SA, Labbé M, Derome N, Culley AI, et al. Diversity of antibiotic-resistance genes in Canadian isolates of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*: dominance of pSN254b and discovery of pAsa8. *Scientific reports*. 2016 Oct 18;6(1):1-0. <https://doi.org/10.1038/srep35617>