

Marcadores fenotípicos de virulencia en cepas de aeromonas aisladas a partir de agua para consumo humano en Pamplona, Colombia

Phenotypic indicators of virulence in isolated aeromonas strains from drinking water for human consumption in Pamplona, Colombia

Herrera A. Fanny¹, Santos B. Jesús²

¹ Facultad de Ciencias Básicas, Departamento de Microbiología, Grupo de Investigación en Microbiología y Biotecnología (GIMBIO) Universidad de Pamplona, Ciudad Universitaria. Pamplona, Norte De Santander, Colombia.

² Universidad de León, Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria.

Recibido 28 de Septiembre 2011; aceptado 6 de Diciembre de 2011

RESUMEN

Con el fin de determinar la producción de marcadores fenotípicos de virulencia en cepas de *Aeromonas* aisladas a partir de agua tratada y de acueductos comunales de la Ciudad de Pamplona (Norte de Santander), se estudió la presencia de hemolisinas, proteasas, lipasas, DNAsas, y adicionalmente, su resistencia frente a antibióticos. El 100% de las cepas de *A. hydrophila* y *A. veronii veronii*, demostraron actividad proteolítica, lipolítica, DNasa y hemolítica; asimismo, el 93% de las cepas de *A. allosaccharophila* fueron proteolíticas, lipolíticas y demostraron actividad DNasa. Las cepas de *A. trota* fueron proteolíticas, lipolíticas y DNasa positivas. La única especie aislada a partir de agua tratada correspondió a *A. hydrophila* la cual demostró producción de los cuatro marcadores fenotípicos estudiados. Adicionalmente, se comprobó la multi-resistencia de las cepas *A. allosaccharophila*, *A. hydrophila*, *A. trota* y *A. veronii veronii* ya que fueron resistentes a antibióticos β -lactámicos, como oxacilina, amoxicilina, carbenicilina y penicilina (a excepción de *A. trota*), a glucopéptidos como vancomicina, y

*Autor a quien debe dirigirse la correspondencia. E-mail: fannyh@unipamplona.edu.co

cefalosporinas, (cefalotina); por otro lado, las cepas fueron sensibles a aminoglucósidos, gentamicina y kanamicina y quinolonas como ácido nalidíxico y al cloramfenicol. Estos resultados, indican que en el agua tratada y la procedente de los acueductos comunales de la ciudad existen cepas de *Aeromonas* potencialmente patógenas y pueden estar relacionadas con gastroenteritis y otras enfermedades en el consumidor.

Palabras claves: *Aeromonas*, agua, emergente, virulencia.

ABSTRACT

In order to determine the production of phenotypic indicators of virulence in isolated Aeromonas strains from treated water and municipal water systems of the City of Pamplona (North of Santander), It was studied the presence of hemolysins, proteases, lipases, DNAses, and further, and their resistance to antibiotics. 100% of the of A. hydrophila and A. veronii veronii strains demonstrated proteolytic, lipolytic, DNase and hemolytic activity, also the 93% of the of A. allosaccharophila strains were proteolytic, lipolytic and showed DNase activity. A. trota strains were proteolytic, lipolytic and positive DNase. The only isolated species from treated water corresponded to A. hydrophila which demonstrated the production of four phenotypic studied indicators. Additionally, it was found the multiresistant of the A. allosaccharophila, A. hydrophila, A. trota and A. veronii veronii strains as they were resistant to β -lactam antibiotics such as oxacillin, amoxicillin, carbenicillin and penicillin (except the A. trota), to glycopeptides such as vancomycin and cephalosporins (cephalothin), on the other hand, the strains were susceptible to aminoglycosides, gentamicin and kanamycin and quinolones such as nalidixic acid and chloramphenicol. These results indicate that in the treated water and and the water from the communal aqueducts of the city there are aeromonas strains wich are potentially pathogenic and may be associated with gastroenteritis and other diseases for the consumer.

Keywords: aeromonas, water, pop, virulence.

INTRODUCCIÓN

Dentro de los patógenos emergentes que se pueden transmitir por consumo de agua se encuentra *Aeromonas* spp. Este género bacteriano se puede dividir en dos grandes grupos con base a la temperatura óptima de crecimiento y la capacidad de movilidad de las especies. El primer grupo es amplio y genéticamente heterogéneo 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, y está constituido por una sola especie: *Aeromonas salmonicida*. El grupo que tiene mayor interés en salud pública es el grupo de las aeromonas mesófilas y móviles debido a que varias especies se consideran agentes de infecciones extra y gastrointestinales. El género *Aeromonas* en la actualidad incluye 30 especies y 12 subespecies, con la inclusión de *A. tecta* (Janda y Abbott, 2010). *A. hydrophila*, *A. veronii* biovar *sobria*, *A. caviae*, *Aeromonas jandaei*, *A. schubertii* y *A. trota* son las especies frecuentemente aisladas de muestras clínicas (Martin-Carnahan y Joseph, 2005).

Aeromonas ocasiona enfermedad diarreica aguda de corta duración o crónica, y es el agente causal de una gran cantidad de infecciones extraintestinales, incluyendo bacteriemia, meningitis, infecciones en heridas y en pulmones (Cabrera *et al.*, 2007, Vila *et al.*, 2003), incluso se ha relacionado con el Síndrome Urémico Hemolítico (Janda y Abbott, 2010). Es bien sabido que las cepas de *Aeromonas* producen una variedad de factores asociados a la virulencia, incluyendo varias enzimas (proteasas, lipasas, elastasas), hemolisinas, enterotoxinas citotóxicas y citotónicas, entre otras (Kirov, 2001). *A. hydrophila*, *A. caviae*,

A. veronii biovar *sobria*, *A. veronii* biovar *veronii*, *A. jandaei*, *A. trota*, y *A. schubertii* son reconocidas como patógenos humanos (Janda y Abbott, 1998); mientras que todas estas especies se han aislado a partir de muestras fecales, principalmente en lactantes y niños, (Guerra *et al.*, 2007; Pereira *et al.*, 2008), *A. hydrophila*, *A. veronii* biovar *sobria* y *A. caviae* se asocian frecuentemente con gastroenteritis (Albert *et al.*, 2000, Janda y Abbott, 2010).

Las entidades gubernamentales, principalmente de los países desarrollados, cada día están más conscientes del riesgo para la salud que implica la presencia de *Aeromonas* en los alimentos y en el agua; actualmente, la Agencia para Protección Ambiental de los Estados Unidos incluye a *A. hydrophila* en su lista de candidatos a contaminantes del agua potable. (En: <http://water.epa.gov/scitech/drinkingwater/dws/ccl/ccl2.cfm#microbial>). La Organización Panamericana de la Salud, en el documento Guía de Sistemas de Vigilancia de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (VETA) y la investigación de Brotes, Guía VETA. 2001, incluye dentro de las bacterias patógenas transmitidas por agua a *A. hydrophila* (En: http://epi.minsal.cl/epi/html/software/guias/VETA/E/anexo_e.htm); Adicionalmente, países como Holanda, Canadá e Italia, han decidido tomar medidas con el fin de controlar la presencia de *Aeromonas* spp. en agua potable, por ejemplo, en Italia, los límites establecen un máximo de *Aeromonas* spp. de 10 ufc/100mL en agua mineral natural y en la embotellada de 100 ufc/100mL (Villari *et al.*, 2003).

En países en vía de desarrollo, muchas personas no tienen acceso a fuentes de agua

potable, y se ven obligados a consumir agua no tratada; En Pamplona existen ocho acueductos comunales que se ubican en los barrios periféricos de la ciudad donde se encuentra la población más vulnerable, quien en la mayoría de los casos no tienen otra opción de fuente de agua para su consumo. Estos acueductos no proveen ningún tipo de tratamiento al agua, y proceden de pozos provisionales que sólo disponen de un tanque de almacenamiento de la misma. Adicionalmente, *Aeromonas*

es una bacteria que puede aislarse a partir de agua tratada, ya que está demostrada su resistencia a los tratamientos de cloración de la misma (Villarruel-Lopez *et al.*, 2005).

Por lo anterior, se hace necesario determinar la capacidad de producción de marcadores fenotípicos de virulencia y la resistencia frente a antibióticos de cepas de *Aeromonas* aisladas a partir de muestras de agua que consume la población pamplonesa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepas

En un estudio realizado previamente, se analizaron 83 muestras de agua, correspondiendo 26 de ellas (31,3%) a muestras de agua tratada del Acueducto de la Ciudad, y 57 (68,7%) de agua no tratada, procedentes de los “acueductos” comunales pertenecientes a los barrios periféricos de la ciudad; Se lograron aislar cepas presuntas de *Aeromonas* spp. a partir del 4,81% de las muestras de agua tratada y del 39,7% de las muestras procedentes de los acueductos comunales de la ciudad; La adscripción a especie de estas cepas se realizó por métodos bioquímicos tradicionales (Abbott *et al.*, 2003). La tabla 1 indica las especies aisladas.

Tabla 1
Especies de *Aeromonas* aisladas a partir de agua de bebida

ESPECIE	Número de cepas (%)
<i>A. hydrophila</i>	15 (31,2)
<i>A. allosaccharophila</i>	28 (58,3)
<i>A. veronii veronii</i>	3 (6,25)
<i>A. trota</i>	2 (4,16)

Las cepas se conservaron congeladas en glicerol, de donde se tomaron 20 μ L y

se inocularon en Agar Base Rojo de Fenol incubando a 30°C durante 18 horas, para confirmar la pureza del cultivo. Después las colonias fueron sembradas en Agar Nutritivo (AN), y se evaluaron las siguientes actividades.

Actividad hemolítica

Se empleó el agar sangre suplementado con 5% eritrocitos de sangre humana. Para esto, a partir de cada una de las cepas cultivadas en el medio AN, se tomó una asada de cultivo y se sembró en spot en la superficie del medio de cultivo, incubando a 30°C durante 24 h. La presencia de zonas claras alrededor de las colonias indicó la actividad β -hemolítica.

Actividad proteolítica

Se evaluó la actividad caseinolítica de las cepas de la siguiente manera: las colonias cultivadas en el medio AN se inocularon en spot sobre la superficie de placas de petri conteniendo agar Mueller- Hinton suplementado al 10% (p/v) con leche descremada, y se

incubaron a 30°C durante 24 h. La presencia de una zona transparente alrededor de las colonias indicó la actividad proteolítica.

Actividad lipolítica

La actividad lipasa se determinó tomando una asada a partir del cultivo de las cepas en el medio AN, sembrando en spot en la superficie de placas de petri conteniendo agar Tributirina, e incubando a 30°C durante 24 h. la presencia de un halo opaco alrededor de las colonias, que indicó la actividad de la lipasa.

Actividad desoxirribonucleasa

A partir de colonias de las cepas cultivadas en el medio AN, se transfirió una asada sobre el agar DNAsa, realizando siembra en

spot y se incubó a 30°C durante 24 h. Posteriormente, se reveló inundando la caja con HCl 1 M, evaluando como positivo las que presentaron un halo alrededor de las colonias.

Susceptibilidad frente a antibióticos

A partir de un cultivo de 24h en TSB (Caldo Trypticasa de Soya), fue sembrada de forma masiva cada una de las cepas sobre la superficie del agar Mueller-Hinton; luego se colocaron sobre la siembra anterior los sensibilizadores con los antibióticos respectivos, de forma equidistante (5 como máximo por placa) incubando a 37°C durante 24 horas. Finalmente se tomó la medida en mm de los halos de inhibición aparecidos alrededor de cada sensibilizador si existía sensibilidad; de lo contrario se registró resistencia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Presencia de marcadores fenotípicos de virulencia en las cepas de Aeromonas

La tabla 2 resume el comportamiento en cuanto a marcadores fenotípicos de virulencia de las especies de *Aeromonas* aisladas en este estudio; como puede verse, un elevado porcentaje de las cepas revela la presencia todos los factores estudiados. Tokajian y Hashwa (2004) detectaron actividad hemolítica en el 52% de agua tratada y del 81% de cepas de *Aeromonas* aisladas a partir de agua no tratada. En el estudio en cuestión, *A. hydrophila* fue la única especie aislada a partir de agua tratada, demostrando los cuatro marcadores fenotípicos estudiados.

Tabla 2
Actividad proteolítica, lipolítica, DNAsa y hemolítica de las especies de *Aeromonas*:

ESPECIE	PROT(%)	LIPO(%)	DNASA(%)	HEMO(%)
<i>A. allosaccharophila</i>	26 (93)	26 (93)	26 (93)	25 (89)
<i>A. hydrophila</i>	15 (100)	15 (100)	15 (100)	15 (100)
<i>A. veronii veronii</i>	3 (100)	3 (100)	3 (100)	3 (100)
<i>A. trota</i>	2 (100)	2 (100)	2 (100)	1 (50)

PROT: actividad proteolítica; LIPOL: actividad lipolítica; DNAsa: actividad DNAsa; HEMO: actividad hemolítica

Es necesario destacar el hecho de encontrar cepas de *A. allosaccharophila* hemolíticas proteolíticas lipolíticas y DNAsa positiva; Bari *et al.*, (2007) detectaron la producción de enterotoxina termolábil por esta bacteria; Razzolini *et al.*, (2008), detectaron actividad

hemolítica en el 80% de estas especies de *Aeromonas*, lo que revela su potencial patogénico y corrobora los resultados hallados en este estudio. Hay que considerar además, el hecho que las capacidades patogénicas de las cepas de *Aeromonas* no están limitadas a fenoespecies, biotipos, ni genotipos particulares de esta bacteria (Albert *et al.*, 2000). *Aeromonas* spp., al igual que un gran número de bacterias patógenas, secretan lipasas al medio que actúan como hidrolasas sobre los lípidos de membrana; El hallazgo que el 96% de las cepas estudiadas expresaran este factor, es un indicio de la capacidad virulenta de las mismas. Se sabe que la mayoría de los factores de virulencia juegan un papel importante en la adquisición de compuestos de carbono; la función de la DNAsa es más incierta. Como los subproductos de los ácidos nucleicos son ricos, tanto en carbono como en nitrógeno, parece que la DNAsa puede ser considerada como una posible enzima nutricional, lo que debe ser corroborado desde el punto de vista experimental. El 94% de las cepas expresaron esta actividad.

Aeromonas produce al menos tres tipos de proteasas. Se cree que el papel principal de las proteasas es establecer y mantener la infección, sobretodo en el caso de heridas e infecciones como la celulitis (Janda *et al.*, 2001). Las cepas aisladas aquí manifestaron esta capacidad en un 96%. Pavlov *et al.*, (2004) revelaron propiedades patogénicas como lipasas, proteasas, DNAsas, entre otras, de cepas de *Aeromonas* aisladas a partir de muestras de agua potable y no potable. Hay que considerar, sin embargo, que algunas cepas que carecen, o no expresan varios de estos determinantes, se han visto implicadas en procesos extra y gastrointestinales (Radu *et al.*, 2003).

Patrones de resistencia-susceptibilidad de las cepas de *Aeromonas*

La tabla 5 detalla los promedios de los halos de inhibición en mm, para cada una de las especies de *Aeromonas* aisladas en este estudio.

Tabla 5
Patrones de resistencia-sensibilidad frente a antibióticos de especies de *Aeromonas*¹

Especie	K	VA	SAM	C	CN	NA	OX	E	AML	CAR	KF	P	NV	OT	BC
1	0,6	R	R	1,0	0,6	1,2	R	0,4	R	R	R	R	R	0,8	R
2	0,6	R	R	1,1	0,6	1,3	R	0,3	R	R	R	R	R	0,8	R
3	0,5	R	0,5	0,6	0,7	1,0	R	0,5	R	R	R	R	R	0,8	R
4	0,5	R	R	1,1	0,6	1,1	R	0,3	R	R	R	R	R	0,6	R

1: *A. allosaccharophila*, 2: *A. hydrophila*, 3: *A. trola*, 4: *A. veronii veronii*
promedio en mm de halos de inhibición; K: kanamicina; F: nitrofuranteína; VA: vancomicina; SAM: ampicilina; C: cloranfenicol; CN: gentamicina; NA: ácido nalidíxico; OX: oxacilina; E: eritromicina; AML: amoxicilina; CAR: carbenicilina; KF: cefalotina; P: penicilina; NV: novobiocina; OT: oxitetraciclina; BC: bacitracina; R: resistente.

Las cuatro especies de *Aeromonas* demostraron un comportamiento similar en cuanto a su resistencia o susceptibilidad frente a los antibióticos ensayados, ya que todas fueron resistentes a la ampicilina (a excepción de *A. trola*), vancomicina, oxacilina, amoxicilina, cefalotina, penicilina y novobiocina y sensibles a los otros antibióticos estudiados.

El comportamiento a diferentes agentes antimicrobianos también ha sido investigado (Scoaris *et al.*, 2008; Castro-Escarpulli *et al.*, 2003); En estos estudios se demostró que todas las cepas de *Aeromonas* ensayadas eran resistentes a la ampicilina. Esta característica es específica del género, y, en el estudio en cuestión, pudo ser corroborado en el 94% de las cepas. La resistencia de la gran mayoría de *Aeromonas* a la ampicilina se considera

mediada por cromosomas. Varios estudios han demostrado que pacientes que toman ampicilina por razones diferentes a presentar diarrea, están predispuestos a infección por esta bacteria (Ghenghesh *et al.*, 2008).

Se pudo comprobar, además, la resistencia de las cepas a otros antibióticos β -lactámicos, como fueron oxacilina, amoxicilina, carbenicilina y penicilina, e incluso a glucopéptidos como vancomicina, aspecto que está demostrado en *Aeromonas* (Bizani y Brandelli, 2001; Tokajian y Hashwa 2004). Se cree que la múltiple resistencia de *Aeromonas* puede estar mediada por conducción enzimática y por presión ambiental selectiva.

Los aminoglucósidos, gentamicina y kanamicina, presentaron una buena actividad frente a las cepas ensayadas, resultado que es congruente los previamente descritos (Tokajian y Hashwa 2004; Koksai *et al.*, 2007). En cuanto a las cefalosporinas, (cefalotina), cabe destacar que todas las especies ensayadas mostraron resistencia. Estos resultados son coincidentes con los previamente descritos para esta bacteria (Goni-Urriza *et al.*, 2000; Emekdas *et al.*, 2006).

Las quinolonas son consideradas el tratamiento antimicrobiano de elección para las infecciones producidas por *Aeromonas*

spp., hecho que pudo ser corroborado en las cepas ensayadas, ya que demostraron una alta sensibilidad frente al ácido nalidíxico (Ghenghesh *et al.*, 2001; Huddleston *et al.*, 2006). Se encontró una alta sensibilidad de las cepas frente al cloramfenicol; Similares resultados encontraron (Bizani y Brandelli 2001; Ghenghesh *et al.*, 2001; Tokajian y Hashwa 2004). No se observaron diferencias importantes en cuanto a la resistencia a los diferentes agentes antimicrobianos y la especie estudiada (Janda y Abbott, 2010), ni tampoco se observaron diferencias si las cepas fueron aisladas de agua potable o de los acueductos comunales.

Se ha investigado la resistencia a los agentes antimicrobianos en cepas de *Aeromonas* aisladas de pescado procedente de piscifactorías a lo largo de varios años, indicando que ésta ha aumentado. Este hecho se ha correlacionado con el incremento en el uso indiscriminado de éstos agentes antimicrobianos en las piscifactorías (Guardabassi *et al.*, 2000; Ghenghesh *et al.*, 2008). Adicionalmente, Rodríguez *et al.*, (2005), en Venezuela, reportaron el aislamiento de una cepa de *A. hydrophila* a partir de sangre humana que resultó ser resistente incluso a cefalosporinas y fluoroquinolonas de tercera generación, lo que puede estar reflejando la realidad del uso indiscriminado de antibióticos a nivel clínico.

CONCLUSIONES

Las cepas aisladas demostraron un alto porcentaje de producción de marcadores fenotípicos de virulencia y de multiresistencia frente a antibióticos β -lactámicos, no encontrando diferencias importantes en cuanto a

la especie de *Aeromonas*, ni el origen de las mismas. Estos resultados apoyan la idea de que en el agua de bebida de Pamplona pueden existir potencialmente bacterias patógenas, y que pueden estar relacionadas con gastroen-

teritis en el consumidor; la multirresistencia de las cepas aisladas, llama la atención a la necesidad de implementar medidas apropiadas para prevenir la introducción de cepas de *Aeromonas* resistentes a las fuentes de agua empleadas por los seres humanos. En todo

caso, es importante investigar la presencia de genes que codifican factores de virulencia en las cepas estudiadas, como son *hlyA*, *aerA*, *act*, *alt* y *ast*, y así confirmar el rol de las cepas como vehículos de enfermedad en el hombre.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott S.L.; Cheung W.K.W.; Janda J.M. (2003). The genus *Aeromonas*: biochemical characteristics, atypical reactions, and phenotypic identification schemes. *J.Clin.Microbiol.* 41: 2348.
- Albert J.M.; Ansaruzzaman M.; Kaisar A.T.; Chopra A.K.; Kuhn I.; Rahman M.; *et al.* (2000). Prevalence of Enterotoxin Genes in *Aeromonas* spp. Isolated From Children with Diarrhea, Healthy Controls, and the Environment. *J. Clin. Microbiol.* 38: 3785–3790.
- Bari, M.; Hachich E.; M.; Melo A.; Sato M. (2007). *Aeromonas* spp. and microbial indicators in raw drinking water source. *Braz. J. Microbiol.* 38(3): 516-521. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/bjm/v38n3/v38n3a25.pdf>
- Bizani D., Brandelli A. (2001). Antimicrobial susceptibility, hemolysis, and hemagglutination among *Aeromonas* spp. isolated from water of a bovine abattoir. *Braz. J. Microbiol.* 32:334-339 Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/bjm/v32n4/11115.pdf>
- Cabrera L.E.; Castro G.; M. Ramírez M.; Llop A.; Llanes R.; Castañeda N.; *et al.* (2007). Aislamiento e identificación de especies pertenecientes a los géneros *Aeromonas*, *Vibrio* y *Plesiomonas* procedentes de muestras extra-intestinales en Cuba. *Rev. Chil. Infect.* 24 (3): 204-208. Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/rci/v24n3/art05.pdf>
- Castro-Escarpullí G.; Figueras M.J.; Aguilera-Arreola G.; Soler L.; Fernández-Rendón E.; Aparicio G.O.; *et al.* (2003). Characterisation of *Aeromonas* spp. isolated from frozen fish intended for human consumption in Mexico. *Int.J.Food. Microbiol.* 84:41-9.
- Emekdas G.; Aslan G.; Tezcan S.; Serin M.S.; Yildiz C.; Ozturhan H.; Durmaz R. (2006). Detection of the frequency, antimicrobial susceptibility, and genotypic discrimination of *Aeromonas* strains isolated from municipally treated tap water samples by cultivation and AP-PCR. *Int. J. Food Microbiol.* 107(3): 310-4.
- Ghenghesh K.S., Abdelmula E.G., Rabia D.; Salaheddin A., Abdurazaq A., Abdussalam T., Karoly M. Prevalence, Species Differentiation, Haemolytic Activity, and Antibiotic Susceptibility of *Aeromonas* in Untreated Well Water. (2001). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 96: 169-173. Disponible en: <http://memorias.ioc.fiocruz.br/962/4042.pdf>
- Ghenghesh K.S., Ahmed S.F., El-Khalek R.A., Al-Gendy A., Klena J. *Aeromonas*-Associated Infections in Developing Countries. (2008). *J. Infect. Dev. Ctries.* 2:81-98. Disponible en: <http://www.jidc.org/index.php/journal/article/view/19738331/174>
- Goni-Urriza M., Pineau L., Capdepuuy M., Roques C., Caumette P., Quentin C. (2000). Antimicrobial resistance of mesophilic *Aeromonas* spp. isolated from two European rivers. *J. Antimicrob. Chemother.* 46(2):297-301.
- Guardabassi L.; Dijkshoorn L. , Collard J.M. , Olsen J.E. , Dalsgaard A. Distribution and in-vitro transfer of tetracycline resistance determinants in clinical and aquatic *Acinetobacter* strains. (2000). *J. Med. Microbiol.* 49(10):929-36.
- Guerra M.F., Fadanelli R., Figueiró M., Schreiner F., Delamare A. L., Wollheim C., *et al.* *Aeromonas* associated diarrhoeal disease in south Brazil: prevalence, virulence factors and antimicrobial resistance. (2007). *Braz. J. Microbiol.* 38(4):638-643. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/bjm/v38n4/a11v38n4.pdf>
- Huddleston J., Zak J., Jeter R. (2006). Antimicrobial Susceptibilities of *Aeromonas* spp. Isolated from Environmental Sources. *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 7036–7042.
- Janda J.M., Abbott, S.L. Evolving concepts regarding the genus *Aeromonas*: an expanding panorama of species, disease presentations, and unanswered questions. (1998). *Clin. Infect. Dis.* 27:332-344.
- Janda J.M., Abbott S.L. The Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Pathogenicity, and Infection. (2010). *Clin. Microbiol. Rev.* 23:35-73.
- Janda L., Damborský J., Reznicek G.A., Wiche G. (2001). Plectin repeats and modules: strategic cysteines and

- their presumed impact on cytolinker functions. *Bio-essays* 23:1064-9.
- Kirov S.M. *Aeromonas* and *Plesiomonas* species.(2001). En: *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. 2 edn. Doyle, M.P., Beuchat, L.R., and Montville, T.J. (eds). ASM Press. Washington, D.C.
- Koksal F., Oguzkurt N., Samasti M., Altas K. Prevalence and antimicrobial resistance patterns of *Aeromonas* strains isolated from drinking water samples in istanbul, Turkey. (2007). *Chemotherapy* 53(1): 30-5.
- Martin-Carnahan A., Joseph SW. *Aeromonadaceae*. (2005). En: Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT, Garrity GM. Eds. *The Proteobacteria, Part B, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2nd Ed. New York, NY: Springer-Verlag.
- Pavlov D., de Wet C., Grabow W., Ehlers. M. Potentially pathogenic features of heterotrophic plate count bacteria isolated from treated and untreated drinking water. (2004). *Int. J. Food Microbiol.* **92**:275-287.
- Pereira C., Amorim S., Santos A., Reis C., Theophilo G., Rodrigues D. Characterization of *Aeromonas* spp. isolates from newborns hospitalized. (2008). *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 41:179-182. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v41n2/a09v41n2.pdf>
- Radu S., Ahmad N., Ling F.H., Reezal A. (2003). Prevalence and resistance to antibiotics for *Aeromonas* species from retail fish in Malaysia. *Int.J.Food Microbiol.* 81: 261-266.
- Razzolini M.T., Di Bari M., Sanchez P.S., Sato M.I. *Aeromonas* detection and their toxins from drinking water from reservoirs and drinking fountains. (2008). *J. Water Health* 6: 117-23. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/bjm/v41n3/a20v41n3.pdf>
- Rodríguez C.N., Campos R., Pastran B., Jimenez I., Garcia A., Meijomil P., Rodríguez-Morales A.J. Sepsis due to extended-spectrum β -lactamase-producing *Aeromonas hydrophila* in a pediatric patient with diarrhea and pneumonia. (2005). *Clin. Infect. Dis.* 41:421-2.
- Scoaris D.O., Colacite J., Nakamura C.V., Ueda-Nakamura T., Abreu Filho B.A., Dias Filho B.P. Virulence and antibiotic susceptibility of *Aeromonas* spp. isolated from drinking water. (2008). *Antonie Van Leeuwenhoek* 93: 111-22.
- Tokajian S., Hashwa F. (2004). Phenotypic and genotypic identification of *Aeromonas* spp. isolated from a chlorinated intermittent water distribution system in Lebanon. *J. Water Health.* 2: 115-22.
- Vila J., Ruiz J., Gallardo F., Vargas M., Soler L., Figueras M.J., Gascon J. *Aeromonas* spp. and traveler's diarrhea: clinical features and antimicrobial resistance. (2003). *Emerg. Infec. Dis.* 9:552-555. Disponible en: <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol9no5/pdfs/02-0451.pdf>
- Villari P., Crispino M., Montuori P., Boccia S. (2003). Molecular Typing of *Aeromonas* Isolates in Natural Mineral Waters. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 697-701.
- Villarruel-Lopez A., Fernandez-Rendon E., Mota-de-la-Garza L., Ortigoza-Ferado J. Presence of *Aeromonas* spp. in water from drinking-water- and wastewater-treatment plants in Mexico City. (2005). *Water Environ. Res.* 77: 3074-9.