

REPORTE DE CASO DE *Aeromonas salmonicida* EN TILAPIA NILÓTICA (*Oreochromis niloticus*) EN CALDAS, COLOMBIA*

*Sebastián Grajales-Hahn*¹, *Christine M. Hahn-von-Hessberg*², *Alberto Grajales Quintero*³

Resumen

Objetivos: Las *Aeromonas salmonicida* son bacilos gram-negativos, anaerobios facultativos, normales en medios ambientes acuáticos y en suelos, identificadas como agentes patógenos en animales poiquiloterms y homeoterms. Los cambios climáticos y la alta contaminación del agua han aumentado probablemente las bacterias en el medio ambiente e incrementado la casuística en las producciones piscícolas comerciales e intensivas, generando altas mortalidades y pérdidas económicas considerables, razón por la cual es importante identificar el agente patógeno por medio de los diferentes métodos diagnósticos. **Resultados:** El tratamiento a instaurar debe contemplar un manejo integral del medio acuático, contemplar métodos alternativos como la herbolaria medicinal o fitoterapia de plantas de uso común y de fácil acceso, económicos y biodegradables. **Conclusiones:** Se reporta por primera vez esta bacteria en la Estación Piscícola Caldas, coincidiendo con los cambios ecológicos y climáticos sufridos como factores predisponentes.

Palabras clave: *Aeromonadaceae*, *Aeromona salmonicida*, tilapia, Cichlidae, piscicultura.

CASE REPORT OF *Aeromonas salmonicida* IN NILOTIC TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) IN CALDAS, COLOMBIA

Objetivos: *Aeromonas salmonicida* are gram-negative bacilli, facultative anaerobes, normal in aquatic environments and in soils, identified as pathogenic agents in poikilotherms and homeotherms. Climate changes and high-water pollution have probably increased the bacteria in the environment, increasing the casuistic in commercial and intensive fish production, thus generating high mortality and considerable economic losses, which is why it is important to identify the pathogen through different diagnostic methods. **Results:** The treatment to be established must contemplate a comprehensive management of the aquatic environment, contemplate alternative methods such as medical herbalism or fitoterapia of plants of common use and easy access, economic and biodegradable. **Conclusions:** This bacterium is reported for the first time in the Caldas Fish Station, coinciding with the ecological and climatic changes suffered as predisposing factors.

Key words: *Aeromonadaceae*, *Aeromonas salmonicida*, tilapia, cichlidae, fish farming.

* FR: 1-VII-2017. FA: 22-XI-2017.

¹ Estudiante Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Caldas. Manizales, Caldas, Colombia. E-mail: sebastian-graha@hotmail.com

² Esp, Msc Profesor, Departamento de Producción Agropecuaria, Universidad de Caldas. Manizales, Caldas, Colombia. E-mail: christine.hahn@ucaldas.edu.co

³ Msc, Ph Profesor, Departamento de Producción Agropecuaria, Universidad de Caldas. Manizales, Caldas, Colombia. E-mail: lberto.grajales@ucaldas.edu.co

CÓMO CITAR:

GRAJALES-HAHN, S.; HAHN-VON-HESSBERG, C.M. & GRAJALES QUINTERO, A., 2015.- Reporte de caso de *Aeromona salmonicida* en tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) en Caldas, Colombia. ISSN 0123-3068 bol.cient.mus.hist.nat. U. de Caldas, 22 (1): 76-85. DOI: 10.17151/bccm.2018.22.1.6

DESCRIPCIÓN

Las *Aeromonas*, en especial la *Aeromonas salmonicida* se encuentra distribuida mundialmente a excepción de Australia (ACHA & SZYFRES, 2001). Son consideradas microorganismos Gram-negativos, a las enzimas como la catalasa y oxidasa a las cuales deben reaccionar positivamente, son fermentadores de glucosa y son aerobios facultativos (CASTRO *et al.*, 2002; ACOSTA-GARCÍA & AGUILAR-GARCÍA, 2014), residen en una amplia variedad de medios ambientes, su hábitat normal es el suelo, aguas dulces lóaticas y lénticas, aguas salobres y saladas, dependen de factores como la temperatura preferible por encima de 20°C, materia orgánica, oxígeno disuelto y en algunos lugares salinidad (McCLURE, COLE & DAVIES, 1994; AUSTIN *et al.*, 1998; FERNÁNDEZ, 2008; JANDA & ABBOTT, 2010). Estas bacterias se han reportado en aguas cloradas y potables (KÜHN, 1997; GONZÁLEZ *et al.*, 2009), aguas negras y aguas contaminadas (BORRELL, FIGUERAS & GUARRO, 1998; GONZÁLEZ *et al.*, 2009), en alimentos de origen animal como carne, pescado, productos de mar, conservas, pan y pasteles, productos lácteos y verduras (ALTWEGG, 1991).

Las *Aeromonas* se conocen hace más de un siglo como agentes patógenos potenciales de poiquilotermos y homeotermos, el aumento de bacterias en el medio ambiente, en especial en ecosistemas acuáticos, es causado posiblemente por los cambios climáticos y la contaminación, generando condiciones de estrés para los peces, factores que han incrementado los problemas sanitarios en las piscícolas, especialmente en cultivos comerciales e intensivos, con efectos económicos negativos considerables que generan creciente interés en salud pública (TENA *et al.*, 2007; FALLAH, BARHAM & JAVADIAN, 2015). Se debe tener en cuenta que los coliformes fecales y las *Aeromonas* no se correlacionan como indicadores de aguas contaminadas (BORRELL, FIGUERAS & GUARRO, 1998; JANDA, ABBOTT, 2010). Sin embargo, las *Aeromonas* podrían ser interesantes como indicadores de la potabilización del agua de consumo humano (SZEWZYK *et al.*, 2000).

Se han aislado *A. hydrophila* en *Oncorhynchus mykiss* (CONSTANTINO *et al.*, 1997), *Oreochromis aureus* y *O. niloticus* (CASTRO-ESCARPULLI *et al.*, 2003), *Carassius auratus* y *Chirostoma humboldtianum* (PANIAGUA *et al.*, 2006) y *A. bestiarum* en *Cyprinus carpio* L. (SORIANO-VARGAS *et al.*, 2010).

IDENTIFICACIÓN

Para conocer las relaciones filogenéticas de las *Aeromonas* se utilizaron las secuencias *gyrB*, gen que codifica la subunidad B de DNA girasa, además del análisis de las regiones 16S rDNA variables (YÁÑEZ *et al.*, 2003, BEAZ-HIDALGO *et al.*, 2010).

A partir de la identificación de la secuencia de los genes (16S rRNA y 5S rRNA y la hibridación DNA y RNA), las *Aeromonas* presentan evolución filogenética diferente a las familias *Enterobacteriaceae* y *Vibrionaceae* (COLWELL *et al.*, 1986), donde pasa a ser familia *Aeromonadaceae*; son bacilos cortos, Gram-negativos, poseen movimiento gracias a su flagelo polar, aerobios facultativos, reducen NO_3^- (nitrato) a NiO (nitrito oxidasa), además son catalasa positivos y fermentan la D-glucosa, siendo la primordial de carbono y energía (COLWELL *et al.*, 1986; ALTWEGG, 1999). La mayoría de la familia *Aeromonadaceae* puede producir exoenzimas (proteasas, DNasas, RNasas, elastasas, lecitinasas, amilasas, gelatinasas y lipasas entre otras) (CHU *et al.*, 1995; ALTWEGG, 1999; NILSSON, GUDKOV & STROM, 2006).

Las *Aeromonas* se dividen en dos grandes grupos, esto dependiendo de la temperatura medio ambiental y de su capacidad de movimiento, así, el primer grupo como característica especial crece a 28°C y es considerado genéticamente heterogéneo y el segundo grupo, su temperatura óptima está entre 22-25°C, se encuentran: la *Aeromonas salmonicida* y sus subespecies *A. salmonicida* ssp. *salmonicida* (típica), *A. salmonicida* ssp. *Masoucida* (atípica), *A. salmonicida* ssp. *Achromogenes* (atípica), *A. salmonicida* ssp. *smithia* (atípica) y *A. salmonicida* ssp. *Pectinolytica* (atípica) (PAVAN *et al.*, 2000). Además, existen otras *Aeromonas* como: *A. hydrophila*, *A. bestiarum*, *A. caviae*, *A. media*, *A. eucrenophila*, *A. sobria*, *A. veronii*, *A. jandaei*, *A. encheleia*, *A. schubertii*, *A. trota*, *A. allosaccharophila* y *A. popoffii*, con diferentes subespecies (WIKLUND & DALSGAARD, 1998; MARTÍNEZ-MURCIA, A.J., 1999; JANDA, 2001).

La patogenicidad de las *Aeromonas* está dada entre otras, por la presencia o ausencia de cápsula, Capa S, los lipopolisacáridos, los pili, las proteínas de las membranas externas (STINTZI *et al.*, 2000), hemolisinas (CHOPRA *et al.*, 2000), proteasas (metaloproteasas y serina proteasas) (CASCÓN, 2000), lipasas (glicerofosfolípido colesterol aciltransferasa -GCAT-, lecitinasa-fosfolipasa C -Plc- asociadas con enfermedades en peces (MERINO *et al.*, 1999), sideróforos (STINTZI *et al.*, 2000).

La descripción completa de los genomas de las *Aeromonas* es importante para conocer su virulencia, los factores que participan en la cohesión, colonización y posteriormente en la infección en los peces (BEAZ-HIDALGO & FIGUERAS, 2013). *A. salmonicida* subsp. *la salmonicida*, considerada la causante de la enfermedad en peces sanos, en su genoma se encuentran un total de 170 pseudogenes y 88 secuencias de inserción (diez tipos diferentes); esta secuencia es fundamental para comprender la forma de infectar a los peces, así, se encontró que el genoma de la *A. salmonicida* ha presentado un reordenamiento trascendental desarrollando pseudogenes, para adaptarse a un huésped específico y evitar los sistemas de defensa del mismo (KOPPANG *et al.*, 2000; NILSSON, GUDKOV & STROM, 2006; REITH *et al.*, 2008; JANDA & ABBOTT, 2010). Se ha encontrado que la *Aeromonas salmonicida*, posee un sistema funcional de secreción tipo tres (TTSS), rico en secuencias de inserción (ISs), por tanto

pueden realizar reordenamientos del ADN en otras especies bacterianas (TANAKA *et al.*, 2012). CHARETTE (2012) encontró en trucha de arroyo la secuencia del genoma de *A. salmonicida* 01-B526, más virulenta que la cepa A449 conocida hasta el momento.

Dentro de las *Aeromonas*, una de las más patógenas es la *Aeromona veronii* *bv. la sobria*, afecta tanto a peces como a humanos, la citotoxicidad de la cepa ATCC 9071T de tipo salvaje a células HeLa llegó al 75%, llegando a la conclusión que las cepas de *Aeromonas* que no producen pigmento son más virulentas que las que producen pigmentos (ABOLGHAIT *et al.*, 2013).

CUADRO SINTOMÁTICO

En las producciones piscícolas se comienzan a observar peces letárgicos, un aumento de la mortalidad y disminución del consumo de alimento balanceado. El cuadro clínico general reportado en peces a causa de infección por *Aeromonas* es la presencia de formaciones ulcerativas hemorrágicas en piel, generalmente en la zona periorcular, edema en diferentes partes del cuerpo, descamación y algunos casos de despigmentación, los cuales pueden terminar en ulceraciones y cuadros septicémicos, causando altas mortalidades, se debe tener en cuenta que pueden estar asociados a otros cuadros clínicos de otros agentes patógenos como la *Saprolegnia* *sp* (GONZÁLEZ, 2002). La *A. salmonicida* produce hemólisis, edema, descamación, ulceraciones e infecciones en piel, tejidos blandos e intestinales, se encuentran también cuadros de gastroenteritis, meningitis, artritis, neumonías (homeotermos), conjuntivitis entre otras (MEIK *et al.*, 2011; ACOSTA-GARCÍA & AGUILAR-GARCÍA, 2014), se debe diferenciar de *A. bestiarum* identificada en diferentes especies de peces de cultivo la cual produce cuadros de hemólisis (KOZINSKA *et al.*, 2002).

DIAGNÓSTICO

Aun cuando las *Aeromonas* están como agentes naturales en el agua y suelo, se pueden patogenizar por causas de estrés, la transmisión se atribuye a peces enfermos o portadores asintomáticos, equipos de pesca, peces silvestres por vía horizontal (digestiva, branquial), entre otros (INGLIS, ROBERTS & BROMAGE, 1993; HEEN *et al.*, 1993, GONZÁLEZ, 2002).

La *A. salmonicida* consigue estar en muchos hospedadores, pero es un patógeno obligado del pez, puede vivir por fuera de su hospedador por un corto tiempo, dependiendo del pH, salinidad, temperatura y materia orgánica (BERNOTH & TESIS, 1997; ACOSTA-GARCÍA & AGUILAR-GARCÍA, 2014).

El período de incubación de las *Aeromonas* se considera de 4 a 12 días, con temperaturas superiores a 21°C, presencia de factores de estrés como: baja calidad del agua, presencia

de ectoparásitos, deficiente alimentación, altas densidades, puede afectar a peces de cualquier edad, sin embargo, los más jóvenes son los más susceptibles (PLUMB, 1999). Para identificar las *Aeromonas* se ha utilizado agar sangre ampicilina, debido a que la mayoría son resistentes a este antimicrobiano, también se puede usar el CIN (cefsulodina-irgasan-novobiocina), para identificarla en alimentos, siendo el más usado el caldo de pre-enriquecimiento, agar bilis-irgasan-verde brillante (BIVB) (GOBAT & JEMMI, 1995; ZHURBENKO & RODRÍGUEZ, 2009). Para determinarlo en medios acuáticos es preferible usar la técnica de filtración con membrana y luego un cultivo en agar dextrina ampicilina (ADA) sin pre-enriquecimiento (BORRELL, FIGUERAS & GUARRO, 1998). En las pruebas diagnósticas incluir tinción de Gram, además de la citocromo oxidasa, presentar crecimiento en agar de tiosulfato citrato bilis sacarosa (TCBS), y generar producción de ácido de inositol y oxidación-fermentación en el medio Hugh Leifson (O/F), esto permite descartar en pruebas diagnósticas la familia *Enterobacteriaceae* (COLWELL, MAC DONELL & DE LEY, 1986; ZHURBENKO & RODRÍGUEZ, 2009; SAFARI *et al.*, 2012). Se han utilizado las pruebas IFAT, ELISA y PCR, consideradas como herramientas de elección para la detección de peces portadores o de peces enfermos asintomáticos (ENRÍQUEZ *et al.*, 1989; ORENGA *et al.*, 2009).

Para la identificación de *Aeromonas salmonicida*, *A. bestiarum* y *A. popoffii* se ha utilizado el método de endonucleasas AlwNI y PstI. (FIGUERAS *et al.*, 2000). TANAKA *et al.* (2012) encontró que la *A. salmonicida* posee un sistema funcional de secreción tipo tres (TTSS), además su genoma es rico en secuencias de inserción (ISs), por tanto, pueden realizar reordenamientos del ADN en otras especies bacterianas. Se ha validado el CromoCen AGN para *Aeromonas*, como sustrato cromogénico para muestras de alimentos, agua y muestras clínicas (BESIER *et al.*, 2008; AGUILERA-ARREOLA *et al.*, 2012; VIERA *et al.*, 2015; RODRÍGUEZ, QUESADA & ZHURBENKO, 2014; VIERA, RODRÍGUEZ & ZHURBENKO, 2016). El constante avance de la biotecnología molecular sugiere que los diagnósticos deberían ser realizadas en los centros de diagnóstico con técnicas moleculares como el RFLP 16S y rDNA para determinar con precisión los genotipos y subtipos de las *Aeromonas*, para tomar las decisiones correctas en los tratamientos (FIGUERAS *et al.*, 2000; CASTRO-ESCARPULLI *et al.*, 2003).

TRATAMIENTO

Al realizarse cultivos comerciales e intensivos de las especies acuícolas, se aumenta el factor de estrés, además las condiciones ambientales se deterioran en esa misma proporción, siendo factores concomitantes para la presentación de enfermedades en los organismos acuáticos, se ha encontrado que las más comunes son las bacterias Gram negativas como *A. salmonicida típica*, *A. salmonicida atípica* y *A. hydrophila* (NÚÑEZ, POZO & VALLADARES, 2001).

Las *Aeromonas* son consideradas resistentes a los antibióticos betaláctamicos (penicilina, ampicilina, cefalotina entre otros), es importante tener en cuenta que algunas cepas son susceptibles a cefalosporinas de segunda y tercera generación y a las quinolonas y muchas otras han generado resistencia a estos productos (ACOSTA-GARCÍA & AGUILAR-GARCÍA, 2014).

El empleo indiscriminado de antibióticos suministrado en el alimento para peces y otros sistemas pecuarios, para el control de enfermedades sin determinación exacta del agente etiológico causante de la enfermedad, ha provocado marcadas resistencias bacterianas, destrucción de los ecosistemas y elevado costo de producción, por lo que los medicamentos naturales constituyen una alternativa interesante (NÚÑEZ, POZO & VALLADARES, 2001).

Desde el comienzo de la humanidad se han utilizado las plantas para la curación o prevención de las diferentes enfermedades, sin embargo, al ser la mayoría tradición oral dentro de los grupos étnicos, estas fueron desapareciendo con el tiempo, dando paso a los nuevos productos farmacéuticos sintéticos (PORTER, 2003). A partir de 1988 se ha comenzado a desarrollar una tendencia científica denominada herbolaria medicinal o fitoterapia, donde se encuentran los estudios terapéuticos y profilácticos de más de 70 plantas utilizadas en acuicultura, siendo la mayoría de estas plantas de uso común, biodegradables, por tanto esta tendencia ha comenzado a ser considerada importante en los sistemas productivos por ser de menor costo que los productos químicos y más amigable con el medio ambiente (LIN *et al.*, 2003; PRIETO, 2005).

Se busca encontrar tratamientos efectivos, prevenir y controlar las infecciones de los peces de enfermedades bacterianas en especial gram negativas como *Aeromonas* spp y *Vibrio*, se han utilizado *Acalypha australis*, *Cayratia japonica*, *Polygonum hydropiper*, *Sapium sebiferum*, *Plecthrantus amboinicus* y *Allium sativum* entre otras (AURÓ & OCAMPO, 2003; MENANTEAU-LEDOUBLE *et al.*, 2017).

Para el control de *Aeromonas salmonicida típica* y *Aeromonas hydrophila* en peces y camarones, se reportan plantas como: *Gracilaria folifera* y *Sargassum longifolium*, *Cassia alata*, *Psidium guajava*, *Callophyllum inphyllum*, *Phyllanthus acidus* y *Ocimum sanctum*, obteniendo resultados satisfactorios en el control y prevención de la enfermedad (SILVEIRA *et al.*, 1999; WEI, 2000; NÚÑEZ, POZO & VALLADARES, 2001; THANIGAIVEL *et al.*, 2015). *Shinus terebintifolius*, *Eucalyptus* sp. y *Allium sativum* fue efectivo in vitro para *Aeromonas salmonicida* y *Vibrio* sp (NÚÑEZ, POZO & VALLADARES, 2002; AURÓ & OCAMPO, 2003; SILVEIRA & MARTÍNEZ, 2004; PRIETO, 2005).

CASO CLÍNICO

El estudio se realizó en la Estación Piscícola, Granja Montelindo, Universidad de Caldas, departamento de Caldas, Colombia, municipio de Palestina, vereda Santágueda, localizada a los 05°04' N y 75°45' W, a una altura de 1010 msnm, humedad relativa de 76% y precipitación de 2200 mm/año, temperatura media de 22,8°C, temperatura promedio del agua en estanque de 27°C, oxígeno 3 ppm y pH 5,5-7,9.

Se comenzaron a observar en los diferentes lotes de producción (reproductores, levante y engorde) de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*), una disminución representativa del consumo de alimento balanceado, posteriormente aletargamiento de los animales y altas mortalidades.

Al realizar la pesca de los peces se observa el siguiente cuadro clínico: en los ejemplares capturados vivos se observa aletargamiento, ligera inflamación en los sitios afectados con aspecto edematoso y leves hemorragias bajo las escamas de tamaño variable, generalmente localizados en la zona muscular (filete, pedúnculo) rara vez en cabeza; al realizar raspado del sitio, solo se encuentra comprometida la parte de la epidermis coincidiendo con GONZÁLEZ, (2002), MEIK *et al.* (2011) y ACOSTA-GARCÍA & AGUILAR-GARCÍA (2014).

En las tilapias muertas que se extraen de los estanques, se observan lesiones múltiples, algunas en su estado inicial de edema y con hemorragias leves, y las otras zonas cutáneas afectadas presentan ulceraciones profundas, afectando la musculatura con pérdida parcial o total del músculo afectado, hasta colocar al descubierto la estructura ósea, las zonas afectadas no presentaron olor desagradable. Se llevaron ejemplares vivos de *Oreochromis niloticus* al laboratorio de microbiología, donde se tomaron las muestras respectivas de las zonas afectadas, al realizar las necropsias correspondientes no se observaron lesiones de los órganos internos (sistema digestivo, renal, reproductor), los cultivos se realizaron en B BBL™ Crystal™ Identification Systems (Sistemas BBL) y se utilizó además agar sangre de carnero al 5%, donde se observó la capacidad β -hemolítica.

DISCUSIÓN

Las infecciones causadas por *Aeromonas* se han descrito con mayor frecuencia en peces de cultivos intensivos como salmones (ACHA & SZYFRES, 2001), en los que el impacto económico es alto. Se coincide con BERNOTH, 1997; TENA *et al.*, 2007; JANDA & ABBOTT, 2010 y FALLAH, BARHAM & JAVADIAN, 2015, en el cual sugieren el incremento de la patogenicidad de la *A. salmonicida*, debido a cambios de la calidad del agua, baja de oxígeno, aumento de materia orgánica, de metabolitos y aumento en la temperatura del agua, además con cuadros clínicos asociados con

Saprolegnia, descritos por GONZÁLEZ (2002). Para disminuir la mortalidad de los peces, se evitó realizar cualquier tipo de manejo de los mismos, se programaron recambios de agua constantes, para mejorar la calidad y condiciones del cuerpo del agua, se adicionó cal dolomita $[\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2]$ o también cal agrícola $(\text{Ca}(\text{OH})_2)$ en una proporción de 1 kg/20m², teniendo en cuenta que la permeabilidad de las membranas orgánicas puede aumentar como consecuencia de una baja de pH del agua, volviendo la población íctica más susceptible a enfermedades y parásitos, al ser utilizada en exceso puede ocasionar trastornos irreparables en el ecosistema. Además, se suspendió la alimentación con alimentos balanceados y solo se suministró hojas de *Xanthosoma sagittifolium*. Al cabo de 4 días se empezó a observar una disminución de la mortalidad de los peces y reactivación del consumo de alimento balanceado, al cabo de dos semanas la mortalidad disminuyó considerablemente presentándose únicamente casos individuales.

CONCLUSIÓN

El interés de reportar el caso radica en documentar las diferentes casuísticas de mortalidad en los sistemas de producción acuícola que generan mortalidades y pérdidas económicas. Gran parte de los problemas de enfermedades que afronta la producción acuícola no es más que el intenso deterioro ambiental causado por deforestaciones, aguas contaminadas con desechos industriales y domésticos, otras producciones pecuarias y agrícolas. Se destaca la importancia de realizar cultivos y estudios microbiológicos que utilicen nuevas técnicas moleculares, necesarios para dar respuestas específicas a las mortalidades de peces y la búsqueda de un manejo adecuado al ecosistema acuático.

REFERENCIAS

- ABOLGHAIT, S.K., MOHAMED, M.F., ALY, S.M., GARBAJ, A.M., MOAWAD, A.A., 2013.- Attenuated virulence of pigment-producing mutant of *Aeromonas veronii* bv. *sobria* in HeLa cells and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 1: 43-47.
- ACHA, P.N. & SZYFRES, B., 2001.- Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals. Tercera Edición Organisation Panamericana de la Santé - OPS. 261 pp.
- ACOSTA-GARCÍA, J. & C.R. AGUILAR-GARCÍA, 2014.- Infección de tejidos blandos por *Aeromona salmonicida*. Primer reporte de caso en México y revisión de la bibliografía. *Med.Int.Méx.*, 30: 221-226.
- AGUILERA-ARREOLA, M.G., PORTILLO-MUÑOZ, M.I., RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, C., CASTRO-ESCARPULLI, G., 2012.- Usefulness of Cromogenic CromoCen[®] AGN agar medium for the identification of the genus *Aeromonas*: Assessment of faecal samples. *J Microbiol Meth.*, 90:100-4.
- ALTWEGG, M., MARTINETTI, L.G., LÜTHY-HOTTENSTEIN, J., ROHRBACH, M., 1991.- *Aeromonas*-associated gastroenteritis after consumption of contaminated shrimp. *Eur J ClinMicrobiol Infect Dis.*, 10: 44-5.
- ALTWEGG M., 1999.- *Aeromonas* and *Plesiomonas*, in: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. Washington: ASM press. 507-16.
- AURÓ, O.A. & OCAMPO, C.L., 2003.- Evaluación comparativa del efecto profiláctico del ajo y de un producto de patente contra Gram negativos en tilapia (*Oreochromis hornorum*). *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 6(2): 67-73.
- AUSTIN, B., AUSTIN, D.A., DALSGAARD, I., GUDMUNDSDÓTTIR, B.K., HOIE, S., THORNTON, J.M. et al., 1998.- Characterization of atypical *Aeromonas salmonicida* by different methods. *Syst.Appl.Microbiol.*, 21:50-64.
- BEAZ-HIDALGO, R., ALPERI, A., BUJÁN, N., ROMALDE, J.L., FIGUERAS, M.J., 2010.- Comparación de la identificación fenotípica y genética de cepas de *Aeromonas* aisladas de peces enfermos. *Microbiología sistemática y aplicada*, 33(3): 149-153.
- BEAZ-HIDALGO, R. & M.J. FIGUERAS, 2013.- *Aeromonas* spp. whole genomes and virulence factors implicated in fish disease. *J Fish Dis*, 36:371-88.

- BERNOTH, E.M. 1997.-Furunculosis. Multidisciplinary Fish Disease Research. Ed. Academic Press. pp: 847.
- BESIER S., ZANDER J., SIEGEL E., SAUM S.H., HUNFELD K.P., EHRHART A., BRADE V., WICHELHAUS T.A., 2008.- Thymidine-Dependent *Staphylococcus aureus* Small-Colony Variants: Human Pathogens That Are Relevant Not Only in Cases of Cystic Fibrosis Lung Disease. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(11): 3829-32.
- BORREL L., N., FIGUERAS, M.J. & J. GUARRO, 1998.- Phenotypic identification of *Aeromonas* genome species from clinical and environmental sources. *Can J Microbiol*, 44: 7-12.
- CASCÓN, A, YUGUEROS, J., TEMPRANO, A., SÁNCHEZ, M., HERNANZ, C., LUENGO, J.M. *et al.*, 2000.- A major secreted enastase is essential for pathogenicity of *Aeromonas hydrophila*. *Infect Immun*, 68: 3233-41.
- CASTRO-ESCARPULLI, G., AGUILERA-ARREOLA, M.A., GIONO C.S., HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, C.H., RODRÍGUEZ CH.M., SOLER FL., OZORES, G.A., FIGUERAS-S., M.J., 2002.- El género *Aeromonas*. ¿Un patógeno importante en México? *Enf. Infecc. y Micro.*, 22(4): 206-216.
- CASTRO-ESCARPULLI, G., FIGUERAS, M.J., AGUILERA-ARREOLA, G., SOLER, L., FERNANDEZ-RENDON, E., APARICIO, G.O. *et al.*, 2003.- Characterization of *Aeromonas* spp. isolated from frozen fish intended for human consumption in Mexico. *Int J Food Microbiol*; 84: 41-49.
- CASTRO-ESCARPULLI, G., AGUILERA-ARREOLA, M.G., HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, C.H., ARTEAGA-GARIBAY, R.I., CARMONA-MARTÍNEZ, A.A., PÉREZ-VALDESPINO, A. *et al.* 2003.- La identificación genética de *Aeromonas*, una realidad y una necesidad para la microbiología diagnóstica. *Bioquímica.*, 28(4): 11-8.
- CHOPRA, A.K., XU, X.J., RIBARDO, D., GONZÁLEZ, M., JUL, K., PETERSON, J.M. *et al.*, 2000.- The cytotoxic enterotoxin of *Aeromonas hydrophila* induces proinflammatory cytokine production and activates arachidonic acid metabolism in macrophages. *Infect Immun*, 5: 2808-18.
- CHU, S., NOONAN, B., CAVAIGNAC, S., TRUST, T.J., 1995.- Endogenous mutagenesis by an insertion sequence element identifies *Aeromonas salmonicida* AbcA as an ATP-binding cassette transport protein required for biogenesis of smooth lipopolysaccharide. *Proc Natl AcadSci*, 92: 5754-8.
- COLWELL, R.R., MACDONELL, M.T. & J. DE LEY, 1986.- Proposal to recognize the family *Aeromonadaceae* fam. nov. *Int J Syst Bacteriol*, 36: 473-7.
- CONSTANTINO-C., E., ARMIJO-O., A., OSORIO-S., D., CHÁVEZ-S., L.A., 1997.- Infección por *Aeromonas hydrophila* e *Ichthyophthirius multifiliis* en trucha (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) y tilapia (*Oreochromis aureus*, L) de un centro de acopio de Morelos, México. Estudio patológico. *Vet Méx.*, 28: 59-62.
- FALLAH, M., BARHAM, S. & JAVADIAN, S.R., 2015.- Fish peptone development using enzymatic hydrolysis of silver carp by-products as a nitrogen source in *Staphylococcus aureus* media. *Food Sci Nutr.*, 3(2): 153-7.
- FERNÁNDEZ A.A., BRAVO FL., RAMÍREZ Á.M., FERNÁNDEZ A.C, LEDO G.Y., CORREA M.Y. *et al.* 2008.- Aislamiento e identificación de *Aeromonas* y *Plesiomonas* en el embalse "Niña Bonita", Ciudad de La Habana, Cuba. *Rev Cubana Med Trop.*, 60(2): 184-6.
- FIGUERAS, M.J., SOLER, L., CHACÓN, M.R., GUARRO, J., MARTÍNEZ-MURCIA A.J., 2000.- Extended method for discrimination of *Aeromonas* spp. by 16S rDNA RFLP analysis. *Int J Syst Evol Microbiol*, 50: 2069-73.
- GOBAT, P. & JEMMI, T., 1995.- Comparison of seven selective media for the isolation of mesophilic *Aeromonas* species in fish and meat. *Int J Food Microbiol*, 24: 375-84.
- GONZÁLEZ, M.I., TORRES T., CHIROLES, S., MANAFI, M., 2009.- Medios de cultivo fluorogénicos y cromogénicos y su evaluación en aguas de consumo y costeras. *Hig Sanid Ambient*, 9: 422-30.
- GONZÁLEZ-K., E.D., 2002.- Descripción de la furunculosis producida por *Aeromonas salmonicida* subespecie *achromogenes* y subespecie *salmonicida* en salmón del Atlántico (*Salmo salar*). Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Patología Animal. Tesis de MVZ. 50 p.
- HEEN, H.; MONAHAN, R.L., & UTTER, F., 1993.- *Salmon Aquaculture*. Ed. Halsted Press. Chapter 7. *Salmon Disease*. p: 166-186.
- INGLIS, V.; ROBERTS, R. & BROMAGE, N., 1993.- *Bacterial Diseases of Fish*. Institute of Aquaculture. Chapter 7. p: 122-141.
- JANDA, J.M., 2001.- *Aeromonas* and *Plesiomonas*, in: Sussman M, ed. *Molecular Medical Microbiology*. San Diego. *Academic Press*: 1237-70.
- JANDA, J.M. & ABBOTT, S.L., 2010.- The genus *Aeromonas*: Taxonomy, Pathogenicity and Infection. *Clin Microbiol Rev.*, 23(1): 35-73.
- KOPPANG, E.O., FJØLSTAD, M., MELGA, R.D.B., VIGERUST, M., ØRUM, H.S., 2000.- Non-pigment-producing isolates of *Aeromonas salmonicida* subspecies *salmonicida*: isolation, identification, transmission and pathogenicity in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *J Fish Dis.*, 23: 39-48.
- KOZINSKA, A., FIGUERAS, M.J., CHACON, M.R., SOLER, L., 2002.- Phenotypic characteristics and pathogenicity of *Aeromonas* genospecies isolated from common carp (*Cyprinus carpio* L.). *J Appl Microbiol*, 93: 1034-1041.
- KÜHN, I., ALLESTAM, G., HUYS, G., JANSSEN, P., KERSTER, K., KROVACEK, K. *et al.*, 1997.- Diversity, persistence, and virulence of *Aeromonas* strains isolated from drinking water distribution systems in Sweden. *Appl Environ Microbiol*, 63: 2708-15.
- LIN, J.H., KAPHLE, K., WU, L.S., YANG, N.Y.J., LU, G., YU, C., YAMADA, H., & ROGERS, P.A.M., 2003.- Medicina veterinaria sostenible para la nueva era. *Rev.Sci. Tech. Off.Int.Epiz.* 22: 949-964.
- MARTÍNEZ-MURCIA, A.J., 1999.- Phylogenetic positions of *Aeromonas* DNA hybridization group 11, *Aeromonas popoffii* and *Aeromonas* Group 501. *Int J Syst Bacteriol*, 49: 1403-8.
- McCLURE, P.J., COLE, M.B. & DAVIES, K.W., 1994.- 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*, 23: 359-75.
- MEIK, S., TISCORNIA, S., ARIAS, M., KIEN, M., & PELLERANO, G., 2011.- Infección cutánea por *Aeromonas*. *Med Cutan IberLat Am.* 39: 23-25.
- MENANTEAU-LEDOUBLE, S., KRAUSS, I., GONCALVES, R.A., WEBER, B., SANTOS, G.A., EL-MATBOULI, M., 2017.- Antimicrobial effect of the Biontronic® Top3 supplement and efficacy in protecting rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from

- infection by *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*. *Research in Veterinary Science*, 114: 95-100.
- MERINO, S., AGUILAR, A., NOGUERAS, M.M., REGUE, M., SWIFT, S., & TOMÁS, J.M., 1999.- Cloning, sequencing and role in virulence of two phospholipases (A1 and C) from mesophilic *Aeromonas* sp. sero group 0:34. *Infect Immun* 1999, 67: 4008-13.
- NILSSON, W.B., GUDKOV, N., & STROM, M.S., 2006.- Atypical strains of *Aeromonas salmonicida* contain multiple copies of insertion element ISAs4 useful as a genetic marker and a target for PCR assay. *Dis Aquat Org*, 70: 209-17.
- NÚÑEZ, M., POZO, M., & VALLADARES, J. 2002.- Concentración inhibitoria mínima de tres extractos de plantas medicinales sobre bacterias del género *Aeromonas* causantes de enfermedades en peces. *Revista Agua TIC*, 14: 23-28.
- ORENGA, S., JAMES, A.L., MANAFI, M., PERRY, J.D., PINCUS, D.H., 2009.- Enzymatic substrates in microbiology. *J Microbiol Meth.*, 79: 139-55.
- PANIAGUA, G.L., MONROY, E., PERCHES, M., NEGRETE, E., GARCIA, O., VACA, S. 2006.- Antibiotic and heavy metal resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from charal (*Chirostoma humboldtianum*, Valenciennes, 1835). *Hidrobiológica*, 16: 75-80.
- PAVAN, M.E., ABBOTT, S.L., ZORZOPULOS, J., JANDA, J.M. 2000.- *Aeromonas salmonicida* subs. *pectinolytica* subs. nov., a new pectina seropositive subspecies isolated from a heavily polluted river. *Int J SystEvolMicrobiol*, 3: 1119-24.
- PLUMB, J.A. 1999. *Health maintenance and principal microbial diseases of cultured fishes*. Ed. Iowa State University Press. pp: 230-235.
- PORTER, R. 2003.- *Breve historia de la medicina. De la antigüedad hasta nuestros días*. Madrid, Taurus, España. Pp. 302.
- PRIETO, A., OCAMPO, A.A., FERNÁNDEZ, A., & PÉREZ, M., 2005.- El empleo de medicina natural en el control de enfermedades de organismos acuáticos y potenciales de uso en Cuba y México. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 8(1): 38-49.
- REITH, M.E., SINGH, R.K., CURTIS, B., BOYD, J.M., BOUEVITCH, A., KIMBALL, J., MUNHOLLAND, J., MURPHY, C., SARTY, D., WILLIAMS, J., NASH, J.N.H., JOHNSON, S.C., & BROWN, L.L., 2008.- The genome of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* A449: insights into the evolution of a fish pathogen. *BMC Genomics*, 9: 427.
- RODRÍGUEZ, M.C., QUESADA, M.V.J., & C.N.B. ZHURBENKO R., 2014.- assignee. Medio de cultivo para la detección de microorganismos Gram-negativos. Patente de Brasil No. PI 0113717-4.
- SAFARI, R., MOTAMEDZADEGAN, A., OVSIPOUR, M., REGENSTEIN, J.M., GILBERG, A., RASCO, B. et al. 2012.- Use of hydrolysates from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) heads as a complex nitrogen source for lactic acid bacteria. *FoodBioprocess Technol*, 5: 73-9.
- SILVEIRA, C.R., & MARTÍNEZ, P.M., 2004.- Aceite de clavo (*Syzygium aromaticum*) como anestésico para la manipulación y transporte de *Oreochromis aureus* (Tilapia). *Panorama Acuicola* 9: 10-13.
- SILVEIRA, R., NÚÑEZ, M., PRIETO, A., MARTÍNEZ, M., VALLADARES, J., & POZO, M., 1999.- Actividad terapéutica de extractos naturales de origen vegetal para el control de parásitos y bacterias de organismos acuáticos de cultivo. Presentado en *VI Jornada Científica de Ciencia y Tecnología Pesqueras*. Ciudad Habana. Cuba. 4-7.
- SORIANO, V.E., SALGADO-MIRANDA, C., SUÁREZ-GÜEMES, F., TRIGO
- SORIANO-VARGAS, E., CASTRO-ESCARPULLI, G., AGUILERA-ARREOLA, M.G., VEGA-CASTILLO, F., SALGADO-MIRANDA, C., 2010.- Aislamiento e identificación de *Aeromonas bestiarum* a partir de carpa común de cultivo (*Cyprinus carpio* L.) procedentes de Santa María Chapa de Mota, Estado de México, México. *Vet. Méx.*, 41(2): 111-115.
- STINTZI, A., BARNES, C., XU, J., RAYMOND, K.N., 2000.- Microbial iron transport via a siderophore shuttle: a membrane ion transport paradigm. *ProcNatlAcadSci.*, 97: 10691-6.
- SZEWZYK, V., SZEWZYK, R., MANIS, W., & SCHLEIFER, H., 2000.- Microbiological safety of drinking water. *AnnuRevMicrobiol*, 54: 81-127.
- TANAKA, K.H., DALLAIRE-DUFRESNE, S., DAHER, R.K., FRENETTE, M., CHARETTE, S.J., 2012.- An insertion sequence-dependent plasmid rearrangement in *Aeromonas salmonicida* causes the loss of the type three secretion system. *PLoS ONE*, 7(3).
- TAVERA, F.J., 2006.- Patogenia microbiana: conceptos básicos en la interacción hospedero-microorganismo. *Vet Méx*, 37: 457-465.
- TENA, D., GONZÁLEZ, P.A., GIMENO, C., PÉREZ, P.M., BISQUERT, J., 2007.- Infección extraintestinal por *Aeromonas* spp: revisión de 38 casos. *EnfermInfectMicrobiol Clin*, 25: 235-241.
- THANIGAIVEL, S., VIDHYA HINDU, S., VIJAYAKUMAR, S., MUKHERJEE, A., CHANDRASEKARAN, N., THOMAS, J., 2015.- Differential solvent extraction of two sea weeds and their efficacy in controlling *Aeromonas salmonicida* infection in *Oreochromis mossambicus*: A novel therapeutic approach. *Aquaculture*, 443: 56-64.
- VIERA-O., D.R., RODRÍGUEZ-M., C., ZHURBENKO, R., CABRERA-G., A.L., LOBAINA-R., T. 2015.- *Study of recovery and differentiation of Aeromonas spp. with different diagnostics*. En: Ponencia presentada en el XVI International Scientific Congress CNIC. Cuba.
- VIERA-O., D.R., RODRÍGUEZ-M., C., & ZHURBENKO, R. 2016.- Recuperación y diferenciación de *Aeromonas* con CromoCen AE y CromoCen AGN. *Rev Cubana Invest Bioméd.*, 35(1).
- WEI, L., LI, Z. & CHEN, B., 2000.- Clinical study on treatment of infantile rotaviral enteritis with *Psidium guajava* L. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He ZaZhi*. 20: 893-895.
- WIKLUND, T., & DALSGAARD, I., 1998.- Occurrence and significance of atypical *Aeromonas salmonicida* in non-salmonid and salmonid fish species: a review. *DisAquatOrgan* 1998, 32: 49-69.
- YAÑEZ, V., CATALÁN, D., APRÁIZ, M., FIGUERAS, J., & MARTÍNEZ-MURCIA, A.J., 2003.- Phylogenetic analysis of members of the genus *Aeromonas* based on *gyrB* gene sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53: 875-883.
- ZHURBENKO, R., & RODRÍGUEZ, M., 2009.- Bases nutritivas para el cultivo de los microorganismos: Parte 2. Principales indicadores de calidad. *Salud (i) Ciencia*, 16(6): 645-8.