

	Página
<b>ÍNDICE DE ABREVIATURAS</b> .....	v
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1. Taxonomía.....	2
1.1.1. Descripción del género .....	2
1.1.2. Perspectivas históricas .....	2
1.1.3. Identificación bioquímica .....	9
1.1.4. Identificación molecular .....	13
1.1.5. Otras técnicas de identificación .....	18
1.1.6. Controversias taxonómicas actuales.....	19
1.2. Epidemiología.....	22
1.2.1. Ecología.....	22
1.2.2. Infecciones en humanos.....	25
1.2.2.1. Intestinales .....	25
1.2.2.2. Extraintestinales .....	29
1.2.2.3. Brotes epidémicos.....	30
1.2.3. Infecciones en peces.....	32
1.2.4. Sensibilidad a agentes antimicrobianos .....	34
1.2.5. Técnicas de tipado.....	37
1.2.5.1. Métodos fenotípicos .....	37
1.2.5.2. Métodos genéticos .....	39
1.3. Factores de virulencia y mecanismos de patogenicidad.....	45
1.3.1. Componentes estructurales.....	45
1.3.2. Productos extracelulares .....	52
1.3.2.1. Sistemas de secreción .....	62
<b>2. INTERÉS Y OBJETIVOS</b> .....	66
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	72
3.1. Origen y aislamiento de las cepas .....	73
3.1.1. Cepas clínicas .....	73
3.1.2. Cepas ambientales.....	73
3.1.3. Cepas de colección y de referencia .....	74
3.1.4. Cepas pertenecientes a otros géneros.....	74
3.2. Resiembra y conservación de cepas .....	74
3.2.1. Conservación a corto plazo .....	74
3.2.2. Conservación a largo plazo .....	74
3.3. Pruebas bioquímicas utilizadas para la identificación de las cepas a nivel de especie.....	75
3.3.1. Cepas clínicas .....	75

	Página
3.3.2. Cepas pertenecientes al complejo fenotípico "A. hydrophila" .....	76
3.3.3. Cepas aisladas de carpa común ( <i>Cyprinus carpio</i> L.).....	76
3.3.4. Cepas aisladas de pescado congelado .....	76
3.4. Identificación genética (RFLP del gen 16S rRNA) .....	77
3.5. Diseño de una sonda para la identificación del género .....	81
3.5.1. <i>Colony blot</i> .....	81
3.6. Secuenciación de genes esenciales .....	82
3.6.1. Gen <i>rpoD</i> (factor $\sigma^{70}$ de la RNA polimerasa).....	82
3.6.2. Gen <i>gyrB</i> (subunidad B de la DNA girasa).....	83
3.6.3. Gen 16S rRNA .....	84
3.6.4. Análisis de las secuencias y construcción de los dendogramas .....	85
3.7. Técnicas de tipado .....	85
3.7.1. RFLP del 16S-23S ISR.....	85
3.7.2. ERIC-PCR .....	86
3.7.3. REP-PCR.....	87
3.7.4. Análisis de geles y dendogramas .....	87
3.8. Sensibilidad a agentes antimicrobianos .....	87
3.9. Estudio de factores de virulencia.....	88
3.9.1. Amplificación de los genes de virulencia.....	88
3.9.2. <i>Dot blot</i> .....	89
3.9.3. Pruebas fenotípicas para la detección de factores de virulencia .....	89
3.9.4. Ensayos de patogenicidad.....	91
3.9.5. Análisis estadístico .....	92
3.10. Estudio del Sistema de Secreción Tipo III (TTSS).....	92
3.10.1. Diseño de cebadores para genes conservados del TTSS .....	92
3.10.2. Amplificación por PCR de genes del TTSS en <i>Aeromonas</i> y secuenciación de los productos amplificados.....	92
3.10.3. Construcción de genoteca en cósmidos.....	93
3.10.4. Cribado de la genoteca.....	94
3.10.5. Extracción de los cósmidos .....	95
3.10.6. Caracterización de los cósmidos .....	96
3.10.7. Análisis e interpretación de las secuencias .....	99
3.10.8. Distribución del TTSS en <i>Aeromonas</i> spp.....	99
3.11. Anexos .....	101

	Página
<b>4. RESULTADOS</b> .....	124
4.1. TAXONOMÍA .....	125
4.1.1. Identificación por métodos bioquímicos y moleculares .....	126
4.1.1.1. Figueras M.J., Soler L., Chacón M.R., Guarro J. y Martínez-Murcia A.J. (2000c). Extended method for discrimination of <i>Aeromonas</i> spp by 16S rDNA-RFLP. <i>International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology</i> , 50: 2069-2073 .....	126
4.1.1.2. Soler L., Marco F., Vila J., Chacón M.R., Guarro J. y Figueras M.J. Evaluation of two miniaturized systems, MicroScan W/A and BBL Crystal E/NF, for the identification of clinical isolates of <i>Aeromonas</i> spp. (En preparación).....	133
4.1.1.3. Chacón M.R., Castro-Escarpulli G., Soler L., Guarro J. y Figueras M.J. (2002). A DNA probe specific for <i>Aeromonas</i> colonies. <i>Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases</i> , 44: 221-225. ....	142
4.1.2. Estudio de especies taxonómicamente complejas.....	148
4.1.2.1. Soler L., Yáñez M.A., Chacón M.R., Guarro J., Martínez-Murcia A. J. y Figueras M. J. (2003). A molecular and phenotypic approach to the taxonomy of the “ <i>Aeromonas hydrophila</i> ” complex. <i>Journal of Applied Microbiology</i> (Sometido).....	148
4.1.2.2. Soler L., Yañez A., Chacón M.R., Aguilera-Arreola M.G., Catalan V., Figueras M.J. y Martínez-Murcia A.J. Phylogenetic analysis of the genus <i>Aeromonas</i> based on two housekeeping genes. (En preparación).....	173
4.2. SENSIBILIDAD A LOS AGENTES ANTIMICROBIANOS.....	198
4.2.1. Vila J., Marco F., Soler L., Chacón M.R. y Figueras M.J. (2002). In vitro antimicrobial susceptibility of clinical isolates of <i>Aeromonas caviae</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i> and <i>Aeromonas veronii</i> biotype sobria. <i>Journal of Antimicrobial Chemotherapy</i> , 49: 701-702. ....	199
4.2.2. Vila J., Ruiz J., Gallardo F., Vargas M., Soler L., Figueras M.J. y Gascon J. (2003). <i>Aeromonas</i> spp. as a cause of traveler’s diarrhea: Clinical features and antimicrobial resistance. <i>Emerging Infectious Diseases</i> , 9: 552-555. ....	202
4.3. TÉCNICAS DE TIPADO MOLECULAR .....	208
4.3.1. Soler L., Figueras M.J., Chacón M.R., Guarro J. y Martínez-Murcia A.J. (2003). Comparison of three molecular methods for typing <i>Aeromonas popoffii</i> isolates. <i>Antonie van Leeuwenhoek</i> , 83: 341-349. ....	209

	<b>Página</b>
<b>4.4. DISTRIBUCIÓN DE FACTORES DE VIRULENCIA</b> .....	219
4.4.1. Chacón M.R., Figueras M.J., Castro-Escarpulli G., Soler L. y Guarro J. (2003). Distribution of virulence genes in clinical and environmental isolates of <i>Aeromonas</i> spp. <i>Antonie van Leeuwenhoek</i> . (En prensa) .....	220
4.4.2. Soler L., Figueras M.J., Chacón M.R., Vila J., Marco F., Martínez-Murcia A.J. y Guarro J. (2002). Potential virulence and antimicrobial susceptibility of <i>Aeromonas popoffii</i> recovered from freshwater and seawater. <i>FEMS Immunology and Medical Microbiology</i> , 32: 243-247 .....	232
4.4.3. Soler L., Chacón M.R., Aguilera-Arreola G., Janda J.M., Esteve C., Guarro J. y Figueras M.J. Presence of virulence markers on clinical and environmental isolates of <i>Aeromonas jandaei</i> (En preparación) .....	239
4.4.4. Castro-Escarpulli G., Figueras M.J., Aguilera-Arreola G., Soler L., Fernández-Rendón E., Aparicio G.O., Guarro J. y Chacón M.R. (2003). Characterisation of <i>Aeromonas</i> spp. isolated from frozen fish intended for human consumption in Mexico. <i>International Journal of Food Microbiology</i> , 84: 41-49 .....	258
4.4.5. Kozińska A., Figueras M.J., Chacon M.R. y Soler L. (2002). Phenotypic characteristics and pathogenicity of <i>Aeromonas</i> genomospecies isolated from common carp ( <i>Cyprinus carpio</i> L.). <i>Journal of Applied Microbiology</i> , 93: 1-8. ....	269
<b>4.5. MECANISMOS DE PATOGENICIDAD</b> .....	278
4.5.1. Chacón M.R., Soler L., Groisman E.A., Guarro J. y Figueras M.J. First evidence of the existence of Type III secretion system in clinical strains of <i>Aeromonas</i> (En preparación) .....	279
<b>5. DISCUSIÓN</b> .....	292
5.1. TAXONOMÍA .....	293
5.1.1. Identificación por métodos bioquímicos y moleculares .....	293
5.1.2. Estudio de especies taxonómicamente complejas .....	298
5.2. SENSIBILIDAD A LOS AGENTES ANTIMICROBIANOS .....	303
5.3. TÉCNICAS DE TIPADO MOLECULAR .....	308
5.4. DISTRIBUCIÓN DE LOS FACTORES DE VIRULENCIA .....	311
5.5. MECANISMOS DE PATOGENICIDAD .....	318
<b>6. CONCLUSIONES</b> .....	322
<b>7. BIBLIOGRAFIA</b> .....	326