



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Original

Influencia de la correcta identificación en la interpretación de las pruebas de sensibilidad en aislados de *Aeromonas* spp. productoras de bacteriemia



Ana Ruiz-Castillo^{a,*}, José Antonio Lepe-Jiménez^a, María José Torres-Sánchez^b,
María José Artacho-Reinoso^a y Javier Aznar-Martín^a

^a Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas, Microbiología y Medicina Preventiva (UCEIMP), Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBIS), Hospital Universitario Virgen del Rocío/CSIC/Universidad de Sevilla, Sevilla, España

^b Facultad de Medicina, Universidad de Sevilla, Sevilla, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 8 de julio de 2014

Aceptado el 27 de febrero de 2015

On-line el 28 de mayo de 2015

Palabras clave:

Aeromonas
Antibióticos
Resistencia
MALDI-TOF
Tratamiento

R E S U M E N

Objetivo: Estudiar la importancia de la correcta identificación a nivel de especie así como la interpretación de las pruebas de sensibilidad en aislados de *Aeromonas* spp. productoras de bacteriemia mediante los métodos convencionales rutinarios y los nuevos métodos moleculares.

Material y métodos: El estudio incluyó a 22 pacientes con bacteriemia por *Aeromonas hydrophila* grupo, identificadas mediante el sistema MicroScan. La identificación posterior a nivel de especie se realizó por espectrometría de masas y se confirmó mediante la secuenciación del gen *rpoB*.

La actividad de imipenem, cefotaxima, piperacilina/tazobactam, ciprofloxacino y cotrimoxazol se estudió por microdilución comercial y tiras de gradiente de antibiótico con bajo y alto inóculo. La detección de carbapenemasas se realizó mediante el test de Hodge modificado y su confirmación mediante la detección por PCR del gen *cphA*.

Resultados: Se identificaron 9 (40,9%) aislamientos como *Aeromonas hydrophila*, 8 (36,4%) como *Aeromonas veronii* y los 5 (22,7%) restantes como *Aeromonas caviae*.

La resistencia a los antibióticos betalactámicos mediante microdilución comercial y tiras de gradiente de CMI fue, respectivamente, del 36-50% para imipenem; del 4-56% para cefotaxima; y de 27-56% para piperacilina/tazobactam.

La concordancia entre el sistema automatizado y el sistema de difusión con tira de gradiente antibiótico fue, globalmente para las 3 especies, del 68% para imipenem, del 50% para cefotaxima y del 46% para piperacilina/tazobactam.

No se detectó resistencia a cotrimoxazol y ciprofloxacino por ambos métodos, aunque el 22,7% de las cepas fueron resistentes a ácido nalidíxico.

Conclusiones: Es fundamental la identificación a nivel de especie de los aislamientos de *Aeromonas* spp. ya que la resistencia a betalactámicos es especie y método dependiente. Los altos porcentajes de resistencia antibiótica encontrados no aconsejan el uso de antibióticos betalactámicos y quinolonas como tratamiento empírico de la infección invasiva por *Aeromonas* spp.

© 2015 Elsevier España, S.L.U. y Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: anichi00@hotmail.com (A. Ruiz-Castillo).

The relevance of correct identification and interpretation of susceptibility testing of *Aeromonas* spp. bacteremia isolates

A B S T R A C T

Keywords:
Aeromonas
 Antibiotics
 Resistance
 MALDI-TOF
 Treatment

Objective: To assess the relevance of correct identification and interpretation of susceptibility testing of *Aeromonas* spp. bacteremia isolates using newly developed molecular methods in comparison to previous conventional methods.

Material and methods: The study included 22 patients with bacteremia due to *Aeromonas hydrophila* group, microbiologically characterized using the MicroScan system. Further identification to species level was performed by mass spectrometry, and confirmed by sequencing the *rpoB* gene.

The MIC of imipenem, cefotaxime, piperacillin-tazobactam, ciprofloxacin and cotrimoxazole was studied using a commercial broth microdilution and antibiotic gradient strips with low and high inocula. Detection of carbapenemase production was performed using the modified Hodge test, and was confirmed by amplifying the *cphA* gene by PCR.

Results: A total of 9 (40.9%) isolates were identified as *Aeromonas hydrophila*, 8 (36.4%) as *Aeromonas veronii*, and the remaining 5 (22.7%) isolates as *Aeromonas caviae*.

Resistance to beta-lactams according to both the commercial microdilution and MIC gradient strips methods was: 36%–50% to imipenem; 4%–56% to cefotaxime, and 27%–56% to piperacillin/tazobactam.

The agreement between results generated by the automated system and the diffusion antibiotic gradient strip was, for all 3 species, 68% for imipenem, 50% to cefotaxime, and 46% to piperacillin/tazobactam.

No resistance to cotrimoxazole and ciprofloxacin was found by either of the two methods, although 22.7% of the strains were resistant to nalidixic acid.

Conclusions: It is essential to identify the isolates of *Aeromonas* spp. at the species level, due to the fact that beta-lactam resistance is species- and method-dependent. The high rate of resistance to beta-lactam and quinolones reduce their application as empiric treatments for invasive infection by *Aeromonas* spp.

© 2015 Elsevier España, S.L.U. and Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. All rights reserved.

Introducción

Aeromonas spp. son bacilos gramnegativos anaerobios facultativos ampliamente distribuidos en el medio ambiente, pudiéndose encontrar en numerosos ecosistemas acuáticos de agua dulce o salobre, así como en aguas residuales¹.

A pesar de que el tracto gastrointestinal es la localización más frecuente de las infecciones producidas por *Aeromonas* spp., también se han comunicado infecciones de localización extraintestinal, principalmente infecciones del tracto biliar, peritonitis, infecciones de piel y tejidos blandos y bacteriemia^{1,2}.

La bacteriemia y la septicemia son entidades relativamente frecuentes en el contexto de la infección por *Aeromonas* y generalmente afectan a pacientes con neoplasias hematológicas, enfermedad hepatoiliar u otras situaciones de inmunodepresión^{3–5}. *Aeromonas veronii* (*A. veronii*), *Aeromonas hydrophila* (*A. hydrophila*) y *Aeromonas caviae* (*A. caviae*) son las especies implicadas en la bacteriemia⁶. No siempre es posible identificar la fuente primaria de la bacteriemia, pero parece razonable asumir que sea el tracto gastrointestinal. En los últimos años se ha observado un aumento de los episodios de bacteriemia asociados a infección nosocomial y/o a los cuidados sanitarios^{4,7}, con una mortalidad muy alta en los pacientes inmunodeprimidos oscilando entre el 24 y el 68%^{4,7–9}.

El tratamiento de la infección bacteriémica por *Aeromonas* spp. no está claramente definido. Fluoroquinolonas, cefalosporinas de tercera generación o cotrimoxazol son opciones de tratamiento, según UptoDate con un grado de evidencia 2C¹⁰, mientras que otras guías de terapéutica antimicrobiana incluyen también carbapenemas dentro de estas opciones^{11–13}.

Estas recomendaciones se basan en que los aislamientos clínicos de *Aeromonas* se consideran sensibles in vitro a cefalosporinas de tercera generación y carbapenemas^{14–21}. Sin embargo, la presencia en el género de diversas betalactamasas cromosómicas inducibles, como metalobetalactamasas, cefalosporinasas de clase C y penicilinasas de clase D, podrían conducir a una falta de eficacia terapéutica de estos antibióticos^{3,20}. Por otro lado, la distribución de las betalactamasas es especie-dependiente²¹ y los métodos convencionales de

identificación son poco precisos en la diferenciación de las especies; por ello la aplicación de nuevas técnicas moleculares como la espectrometría de masas podría ser de gran ayuda en la caracterización precisa del género a nivel de especie^{22–25}.

Además, no existe acuerdo entre las distintas guías en los criterios de interpretación de la sensibilidad del género *Aeromonas* a los antibióticos. Así, la guía americana CLSI²⁶ presenta puntos de corte y la guía europea EUCAST no los ofrece, al ser un tema sujeto a discusión.

El objetivo del presente trabajo ha sido llegar a una correcta identificación a nivel de especie haciendo uso de la tecnología MALDI-TOF²⁷ basándonos en la secuenciación parcial del gen *rpoB* como método de referencia; así como la interpretación adecuada de las pruebas de sensibilidad en aislados de *Aeromonas* spp. productoras de bacteriemia comparando los métodos convencionales que se utilizan en la actualidad con los nuevos métodos moleculares.

Material y métodos

Aislamientos clínicos

Se estudiaron 22 aislamientos de *Aeromonas* spp. procedentes de hemocultivos de pacientes ingresados en el hospital Virgen del Rocío en el periodo comprendido entre 2003 y 2013, que el sistema convencional de identificación (MicroScan, Siemens AG, Alemania) caracterizaba como *A. hydrophila* grupo.

Identificación

La identificación definitiva de especie se realizó mediante secuenciación parcial del gen *rpoB*^{28,29} utilizando los cebadores PasrpoB-L (5'-GTGAAAGARTTCTTTGGTTC-3') y RpoB-R (5'-TTGCATGTTNGNACCCAT-3').

Asimismo, se procedió a una identificación a nivel de especie mediante un espectrómetro de masas Microflex II (Bruker Daltonik, Alemania) equipado con un láser de 60 Hz directamente de la

colonia y por extracción con protocolo estándar²⁷, considerando una puntuación superior a 2,2 indicativa de identificación a nivel de especie. Adicionalmente se procedió a un análisis manual de los espectros obtenidos con el objetivo de identificar aquellos picos característicos de especie.

Sensibilidad a antimicrobianos

La CMI de imipenem, cefotaxima y piperacilina/tazobactam, así como de ciprofloxacino; cotrimoxazol y aminoglucósidos como amikacina y gentamicina se determinó mediante el método de microdilución en caldo en los paneles combo NC53 (MicroScan, Siemens AG, Alemania). Además, se estudió mediante difusión en disco en agar Mueller Hinton la sensibilidad a ácido nalidíxico. Los puntos de corte utilizados para establecer la categoría clínica se basaron en recomendaciones CLSI²⁶.

Adicionalmente, se realizó la determinación de la CMI de imipenem, cefotaxima y piperacilina/tazobactam mediante difusión en agar con tiras de gradiente de antibiótico (Liofilchem, Italia) con 2 tamaños de inóculo (0,5 y 1,5 McFarland), según el método descrito por Wu y el CLSI^{26,28}. Las cepas que presentaban colonias en el interior de la elipse de inhibición fueron consideradas resistentes con valores de CMI superiores a la concentración máxima de la tira utilizada.

El estudio fenotípico de producción de carbapenemasas se realizó mediante el test de Hodge modificado utilizando una cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 y un disco de ertapenem de 10 µg, según el protocolo descrito por Wu et al.²⁸.

Detección del gen *cphA*

Se realizó mediante amplificación por PCR, siguiendo el protocolo establecido por Wu et al.²⁸, utilizando los siguientes cebadores: *cphA*-F: 5'-GCT TAG AGC TCC TAA GGA GCA AGA TGA AAG GTT GG-3' y *cphA*-R: 5'-GCA TAG GTA CCT TAT GAC TGG GGT GCG GCC TTG-3'. Este método, amplifica un fragmento de 720 pb aproximadamente, que detecta mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,2%.

Resultados

Identificación de los aislamientos clínicos

Los resultados de la secuenciación parcial del gen *rpoB* fueron los siguientes: 9 (40,9%) cepas se identificaron como *A. hydrophila*, 8 (36,4%) como *A. veronii* y las 5 (22,7%) restantes como *A. caviae*.

La espectrometría de masas permitió la identificación exacta a nivel de especie (puntuación > 2,2) en 13 (59%) aislados empleando el protocolo de extracción, mientras que a partir de la colonia directa se identificaron 16 (73%) aislados.

El 100% de las cepas de *A. veronii* se identificaron de forma exacta por ambos métodos. Mediante el análisis manual de los espectros

se obtuvieron una serie de picos característicos de especie que permitían la identificación de la especie (tabla 1). Nueve (40,9%) cepas fueron identificadas como *A. hydrophila*, 8 (36,4%) como *A. veronii* y las 5 (22,7%) restantes como *A. caviae*, obteniéndose los mismos resultados que mediante el método de referencia.

Sensibilidad antibiótica

La aparición de colonias en el interior de la elipse de inhibición se consideró como criterio de resistencia con un valor de CMI mayor de la máxima concentración de la tira de gradiente antibiótico. De esta forma podemos ver cómo el fenómeno de heterorresistencia está implicado en la práctica totalidad de los casos de resistencia a imipenem y cefotaxima (10/11 y 11/12 respectivamente) y también en una proporción importante (6/12) de los casos de resistencia a piperacilina/tazobactam, obteniendo unos altos porcentajes de resistencia a los 3 antibióticos betalactámicos probados (tabla 2).

Los valores de CMI encontrados en las colonias del interior de las elipses de inhibición fueron muy variables, oscilando desde la sensibilidad hasta la resistencia de alto nivel. En el caso de imipenem, con valores desde 0,5 mg/L a > 32 mg/L, en el caso de cefotaxima desde 4 mg/L hasta > 32 mg/L y desde 6 mg/L hasta > 256 mg/L en el caso de piperacilina/tazobactam.

Asimismo, el efecto inóculo ha sido observado en una proporción variable de casos afectando tanto a cepas sensibles como resistentes. Este efecto se observa con mayor frecuencia en imipenem y piperacilina/tazobactam que con cefotaxima.

Existen diferencias notables entre las 3 especies (tabla 2). El mayor grado de resistencia lo encontramos con *A. hydrophila* siendo resistentes 7 de las 9 cepas estudiadas a los 3 betalactámicos con distinto grado de heterorresistencia y afectación del inóculo según el antibiótico considerado. Sin embargo, en *A. veronii* destaca la total sensibilidad a cefotaxima frente a un alto nivel de resistencia a imipenem y piperacilina/tazobactam, siendo el imipenem el antibiótico donde aparecen más casos de heterorresistencia y afectación por inóculo. Por último, imipenem y piperacilina/tazobactam muestran una buena actividad frente a *A. caviae* mientras que todas las cepas son resistentes a cefotaxima, desempeñando un papel muy importante en ello la heterorresistencia.

En la detección de carbapenemasas mediante el test de Hodge modificado, encontramos que fue positivo en 16 (72,7%) de las 22 cepas estudiadas: en 8 (89%) de las 9 cepas de *A. hydrophila*, en todas las cepas de *A. veronii* y en ninguna de las *A. caviae*.

La amplificación del gen *cphA* fue positiva en 14 de las 22 (63,6%) cepas estudiadas. Diferenciándose por especies, en ninguna de las *A. caviae* se detectó el gen, mientras que el resultado fue positivo en 7 de 9 (77,7%) *A. hydrophila* y en 7 de 8 (87,5%) *A. veronii*. La detección del gen *cphA* coincidió en su totalidad con el método de tiras de gradiente antibiótico en el caso de *A. caviae* y *A. hydrophila*; en la cual 6 de las 7 cepas resistentes a imipenem se detectaron por el fenómeno de la heterorresistencia. No obstante, en el caso de *A. veronii*, solo se detectaron mediante

Tabla 1
Identificación de las especies de *Aeromonas* obtenida mediante MALDI-TOF y análisis de los espectros

<i>A. caviae</i> (%)	Picos (Da)	Proporción de cepas	<i>A. hydrophila</i> (%)	Picos (Da)	Proporción de cepas	<i>A. veronii</i> (%)	Picos (Da)	Proporción de cepas
5 (22,7)	3.856	3/5	9 (40,9)	2.222	3/9	8 (36,4)	3.668	8/8
	4.306	3/5		3.134	4/9		4.315	7/8
	4.978	5/5		3.869	3/9		4.698	7/8
	5.889	5/5		4.450	4/9		6.331	3/8
	7.707	5/5		4.485	8/9		7.340	7/8
	8.984	3/5		5.040	4/9		8.630	4/8
				5.712	7/9			
				5.722	3/9			
				7.738	3/9			

Tabla 2Actividad de imipenem, cefotaxima y piperacilina/tazobactam sobre las distintas especies de *Aeromonas* mediante gradiente de concentración de antibiótico y microdilución (MicroScan)

Especie	Antibiótico	Difusión en agar mediante tiras en gradiente de concentración de antibiótico					Microdilución (MicroScan)	
		N.º cepas sensibles	N.º cepas resistentes	N.º cepas heterorresistentes	Afectación por inóculo	Rango CMI colonias heterorresistentes	N.º cepas sensibles	N.º cepas resistentes
<i>A. hydrophila</i> (N=9)	Imipenem	2	7	6	5	> 32	4	5
	Cefotaxima	2	7	7	2	4-> 32	9	0
	Piperacilina/Tazobactam	2	7	4	3	24-> 256	7	2
<i>A. veronii</i> (N=8)	Imipenem	4	4	4	0	0,5-8	5	3
	Cefotaxima	8	0	0	0	-	8	0
<i>A. caviae</i> (N=5)	Piperacilina/Tazobactam	4	4	2	2	6-> 256	5	3
	Imipenem	5	0	0	0	-	5	0
	Cefotaxima	0	5	4	0	> 32	4	1
	Piperacilina/Tazobactam	4	1	0	0	-	4	1

tiras de gradiente antibiótico 4 cepas con resistencia a imipenem, siendo 7 de ellas positivas para el gen *cphA*.

Los resultados de sensibilidad antimicrobiana obtenidos por los diferentes métodos se recogen en la [tabla 2](#).

La concordancia entre el sistema automatizado y el sistema de difusión con tira de gradiente antibiótico fue, globalmente para las 3 especies, del 68% para imipenem, del 50% para cefotaxima y del 46% para piperacilina/tazobactam.

Veintiuna (95,4%) de las cepas fueron sensibles a cotrimoxazol y todas las cepas fueron sensibles a ciprofloxacino; aunque el 23% de las cepas fueron resistentes a ácido nalidíxico. En cuanto a los aminogluósidos, se encontró un 100% de cepas sensibles a amikacina y un 88% de sensibilidad a gentamicina.

Discusión

Este trabajo constata que la sensibilidad antibiótica en el género *Aeromonas* es especie y método dependiente^{3,21}, por lo que la identificación precisa a nivel de especie tiene relevancia clínica y la espectrometría de masas podría ser una alternativa superior a los métodos fenotípicos convencionales.

Recientemente, se ha publicado un artículo²⁵ en el que los picos característicos para las 3 especies estudiadas y los propuestos en nuestro trabajo coinciden parcialmente en el caso de *A. hydrophila*, y en el 100% de *A. veronii* y *A. caviae*. En el caso de *A. hydrophila*, de los 4 picos característicos que señalan en el trabajo, coincidimos en 2 y añadimos 7 picos más. No obstante, estas coincidencias se dan en menor grado²² o no se aprecian con otros trabajos publicados²³.

A pesar de ello, la precisión en la identificación de nuestras cepas mediante MALDI-TOF queda constatada por la concordancia total con la secuenciación del gen *rpoB*.

A diferencia de los métodos basados en la amplificación de ácidos nucleicos y secuenciación, es un método sencillo, rápido y relativamente poco costoso, aunque son necesarias mejoras en las bibliotecas de los sistemas MALDI-TOF para la identificación automática de estos microorganismos y evitar la necesidad de un análisis manual.

El cotrimoxazol y las fluoroquinolonas suelen ser los fármacos de primera línea en el tratamiento de las infecciones graves por *Aeromonas* spp., pudiendo también usarse aminogluósidos, cefalosporinas de tercera generación, piperacilina/tazobactam y carbapenemas, especialmente imipenem¹⁰⁻¹³. No obstante, existen discrepancias entre los diversos autores con respecto a la actividad y eficacia de los mismos^{4,6,18,20,21,30-32}.

Los métodos automatizados convencionales no son capaces de detectar todos los posibles casos de resistencia en los antibióticos

betalactámicos en *Aeromonas* spp., clasificando como sensibles a microorganismos resistentes.

Aeromonas spp. presenta distinto grado de heterorresistencia y afectación por el inóculo en función del antimicrobiano estudiado; así, es más frecuente en cefotaxima e imipenem que en piperacilina/tazobactam. Este hecho determina la falta de concordancia entre el método de microdilución automatizado y el de difusión con tira de gradiente de antibiótico. Esta variabilidad se debe a los diferentes tipos betalactamasas cromosómicas inducibles: metalo-betalactamasa, cefalosporinasa de clase C y penicilinas de clase D que posee *Aeromonas* spp., distribuidas según especie³³. Estas enzimas se inducen mediante un sistema único de expresión coordinada, el sistema *blrAB* TCR³⁴ y esta inducción en ocasiones es dependiente de inóculo²⁸. Al aumentar el inóculo, se incrementa la CMI e incluso cambiaría la categoría clínica de sensible a resistente como podría ocurrir en las infecciones con una alta carga bacteriana.

En el caso de la cefotaxima, la heterorresistencia aparece en el 80% de las cepas de *A. caviae* y en el 77,7% de las cepas de *A. hydrophila* debido a la presencia de la betalactamasa cromosómica e inducible de clase C (AmpC), la cual no aparece en *A. veronii*. Sin embargo, los métodos automatizados habituales no detectan la heterorresistencia, obteniéndose un 96% de cepas sensibles, cifras muy similares a las descritas en estudios previos^{18,21,30,31-33}. Sin embargo, ninguno de ellos utilizó la metodología necesaria para la detección de heterorresistencia. Por todo ello, el método de difusión con tira de gradiente de antibiótico es el que mejor puede detectar la posible aparición de estas cepas resistentes inducidas durante el tratamiento con cefalosporinas de tercera generación.

Con respecto a piperacilina/tazobactam, la literatura arroja resultados similares a cefotaxima; con altos niveles de sensibilidad encontrados en la mayoría de los estudios^{18,21,30,32}. En nuestro trabajo los porcentajes de resistencia son iguales que para cefotaxima si tenemos en cuenta el global de las especies; no obstante, es el antibiótico donde encontramos menos casos de heterorresistencia, estando este hecho tal vez relacionado con la menor potencia como inductor de la piperacilina/tazobactam de las enzimas betalactamasas³⁵.

Wu et al.²⁸ evaluaron diversos métodos fenotípicos para la detección de carbapenemasas en este género, concluyendo que el test de Hodge modificado es el más sensible, al detectar el 97% de los aislamientos que poseían el gen *cphA*. Nuestros resultados coinciden en la especie *A. caviae*; en todas ellas fue negativo como era esperable ya que esta especie carece de carbapenemasa cromosómica. Sin embargo, en algunas cepas de *A. hydrophila* y *A. veronii* hemos detectado falsos positivos.

En las infecciones invasivas por *A. caviae*, imipenem puede ser un tratamiento efectivo y recomendable. En los casos de infección

por *A. veronii* y *A. hydrophila* existe un porcentaje de cepas que se categorizan por los métodos habituales como sensibles, haciéndose evidente la importancia de la correcta identificación a nivel de especie.

La concordancia entre la amplificación del gen *cphA* y la detección del fenómeno de la heterorresistencia, en el caso de las resistencias inducibles a imipenem, ha demostrado la fiabilidad del método de tiras de gradiente antibiótico en las especies de *A. hydrophila* y *A. caviae*, pero no en *A. veronii* para la detección de carbapenemasas, lo que nos permite suponer que sería también adecuado para el resto de los antibióticos probados así como en todos aquellos que puedan afectarse por la inducción de las enzimas cromosómicas que albergan estas especies.

Finalmente, aunque el 100% de nuestras cepas es sensible a ciprofloxacino, el 23% de ellas presenta resistencia a ácido nalidíxico, lo que implica una mutación de primer paso en el gen *gyrA* que podría conducir una segunda mutación que invalide el tratamiento con ciprofloxacino^{4,6,18,21}. Asimismo, cotrimoxazol y aminoglucósidos como amikacina y gentamicina pueden ser un tratamiento eficaz, como se recoge en distintas guías^{6,10,12,13}, por presentar unas altas tasas de sensibilidad.

Para concluir, queremos resaltar la importancia de la correcta identificación de las especies de *Aeromonas* spp. más frecuentemente encontradas en clínica así como la interpretación adecuada de las pruebas de sensibilidad.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Janda JM, Abbott SL. The genus *Aeromonas*: Taxonomy, pathogenicity, and infection. *Clin Microbiol Rev.* 2010;23:35–73.
- Tena D, González-Praetorius A, Gimeno C, Pérez-Pomata MT, Bisquert J. Extraintestinal infection due to *Aeromonas* spp.: Review of 38 cases. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2007;25:235–41.
- Zhiyong Z, Xiaoju L, Yanyu G. *Aeromonas hydrophila* infection: Clinical aspects and therapeutic options. *Rev Med Microbiol.* 2002;2002:151–62.
- Tsai MS, Kuo CY, Wang MC, Wu HC, Chien CC, Liu JW. Clinical features and risk factors for mortality in *Aeromonas* bacteremic adults with hematologic malignancies. *J Microbiol Immunol Infect.* 2006;39:150–4.
- Hochedez P, Hope-Rapp E, Olive C, Nicolas M, Beaucaire G, Cabié A. Bacteremia caused by *Aeromonas* species complex in the Caribbean Islands of Martinique and Guadeloupe. *Am J Trop Med Hyg.* 2010;83:1123–7.
- Tang HJ, Lai CC, Lin HL, Chao CM. Clinical manifestations of bacteremia caused by *Aeromonas* species in Southern Taiwan. *PLoS One.* 2014;9:e91642.
- Wang JH, Wang CY, Chi CY, Ho MW, Ho CM, Lin PC. Clinical presentations, prognostic factors, and mortality in patients with *Aeromonas sobria* complex bacteremia in a teaching hospital: A 5-year experience. *J Microbiol Immunol Infect.* 2009;42:510–5.
- Ko WC, Chuang YC. *Aeromonas* bacteremia: Review of 59 episodes. *Clin Infect Dis.* 1995;20:1298–304.
- Lau SM, Peng MY, Chang FY. Outcomes of *Aeromonas* bacteremia in patients with different types of underlying disease. *J Microbiol Immunol Infect.* 2000;33:241–7.
- Morris JG, Horneman A. *Aeromonas* infections. En: UpToDate; 2014. Waltham, MA. [consultado 25 Oct 2014].
- Wilson JW, Estes LL, editores. Mayo Clinic antimicrobial therapy quick guide. 2nd ed New York: Mayo Clinic Scientific Press/Oxford University Press; 2012.
- Mensa J, Gatell JM, García-Sánchez JE, Letang E, López-Suñé E, Marco F, editores. Guía de terapéutica antimicrobiana. 23.ª ed Barcelona: Escofet; 2013.
- Steinberg J, Burd E. Other gram-negative and gram-variable bacilli. En: Mandell G, Bennett J, Dolin R, editores. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 7th edition Philadelphia: Churchill Livingstone; 2009. p. 3015–33, 2.
- Janda JM, Abbott SL. Evolving concepts regarding the genus *Aeromonas*: An expanding panorama of species, disease presentations, and unanswered questions. *Clin Infect Dis.* 1998;27:332–44.
- Horneman A, Ali A. *Aeromonas*. En: Versalovic J, Carroll K, Funke G, Jorgensen J, Landry M, Warnock D, editores. Manual of clinical microbiology. 10th ed Washington, DC: ASM Press; 2011. p. 658–65.
- Motyl MR, McKinley G, Janda JM. In vitro susceptibilities of *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, and *Aeromonas caviae* to 22 antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother.* 1985;28:151–3.
- Overman TL, Janda JM. Antimicrobial susceptibility patterns of *Aeromonas jandaei*, *A. schubertii*, *A. trota*, and *A. veronii* biotype *veronii*. *J Clin Microbiol.* 1999;37:706–8.
- Vila J, Marco F, Soler L, Chacón M, Figueras MJ. In vitro antimicrobial susceptibility of clinical isolates of *Aeromonas caviae*, *Aeromonas hydrophila*, and *Aeromonas veronii* biotype *sobria*. *J Antimicrob Chemother.* 2002;49:701–2.
- Cattoir V, Poirel L, Aubert C, Soussy CJ, Nordmann P. Unexpected occurrence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants in environmental *Aeromonas* spp. *Emerg Infect Dis.* 2008;14:2–7.
- Sánchez-Céspedes J, Figueras MJ, Aspiroz C, Aldea MJ, Toledo M, Alperí A, et al. Development of imipenem resistance in an *Aeromonas veronii* biovar *sobria* clinical isolate recovered from a patient with cholangitis. *J Med Microbiol.* 2009;58:451–5.
- Aravena-Román M, Inglis TJ, Henderson B, Riley TV, Chang BJ. Antimicrobial susceptibilities of *Aeromonas* strains isolated from clinical and environmental sources to 26 antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56:1110–2.
- Benagli C, Demarta A, Caminada AP, Ziegler D, Petrini O, Tonolla M. A rapid MALDI-TOF MS identification database at genus/species level for clinical and environmental *Aeromonas* strains. *PLoS One.* 2012;7:e48441.
- Donohue MJ, Smallwood AW, Pfaller Rodgers M, Shoemaker JA. The development of a matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry-based method for the protein fingerprinting and identification of *Aeromonas* species using whole cells. *J Microbiol Meth.* 2006;65:380–9.
- Lamy B, Kodjo A, Laurent F, ColBVH Study Group. Identification of *Aeromonas* isolates by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Diagn Microb Infect Dis.* 2011;71:1–5.
- Chen PL, Lee TF, Wu CJ, Teng SH, Ko WC, Hsueh PR. Matrix-assisted laser desorption/ionization–time of flight mass spectrometry can accurately differentiate *Aeromonas dhakensis* from *A. hydrophila*, *A. caviae*, and *A. veronii*. *J Clin Microbiol.* 2014;52:2625–8.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2010. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated fastidious bacteria; approved standard. 2nd ed. Wayne, PA: CLSI document M45-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
- Sauer S, Freiwald A, Maier T, Kube M, Reinhardt R, Kostrzewa M, et al. Classification and identification of bacteria by mass spectrometry and computational analysis. *PLoS One.* 2008;3:e2843.
- Wu CJ, Chen PL, Wu JJ, Yan JJ, Lee CC, Lee HC, et al. Distribution and phenotypic and genotypic detection of a metallo- β -lactamase, CphA, among bacteremic *Aeromonas* isolates. *J Med Microbiol.* 2012;61:712–9.
- Küpfer M, Kuhnert P, Korczak BM, Peduzzi R, Demarta A. Genetic relationships of *Aeromonas* strains inferred from 16S rRNA, *gyrB* and *rpoB* gene sequences. *Int J Syst Evol Microb.* 2006;56:2743–51.
- Po-Lin C, Wen-Chien K, Chi-Jung W. Complexity of beta-lactamases among clinical *Aeromonas* isolates and its clinical implications. *J Microbiol Immunol.* 2012;45:398–403.
- Ko WC, Lee HC, Chuang YC, Liu CC, Wu JJ. Clinical features and therapeutic implications of 104 episodes of monomicrobial *Aeromonas* bacteremia. *J Infect.* 2000;40:267–73.
- Fosse T, Giraud Morin C, Madinier I. Phénotypes de résistance aux β -lactamines dans le genre *Aeromonas*. *Pathol Biol.* 2003;51:290–6.
- Quiroga M, Vergara M. Behaviour against β -lactams in *Aeromonas* spp. isolated from extraintestinal infections. En: Méndez Vilas A, editor. Science against microbial pathogens: Communicating current research and technological advances. Badajoz: Formatec Research Center; 2011. p. 440–3.
- Niumsup P, Simm AM, Nurmahomed K, Walsh TR, Bennett PM, Avison MB. Genetic linkage of the penicillinase gene, *amp*, and *blrAB*, encoding the regulator of β -lactamase expression in *Aeromonas* spp. *J Antimicrob Chemother.* 2003;51:1351–8.
- Harris PNA, Ferguson JK. Antibiotic therapy for inducible AmpC β -lactamase-producing Gram-negative bacilli: What are the alternatives to carbapenems, quinolones and aminoglycosides. *Int J Antimicrob Ag.* 2012;40:297–305.