VI. CONCLUSIONES

1. Se ha elaborado un protocolo basado en los patrones de restricción del gen 16S rRNA que ha permitido identificar todas las especies aceptadas de *Aeromonas*.

2. Se ha comprobado que los sistemas de identificación para enterobacterias MicroScan W/A y BBL Crystal E/NF, frecuentemente utilizados en clínica, no son útiles para la identificación de *Aeromonas* spp.

3. Se ha diseñado una sonda a partir de un fragmento de 237 pb del gen que codifica para la glicerofosfolípido-colesterol aciltransferasa, que demostró ser capaz de identificar las colonias de *Aeromonas*.

4. Se ha comprobado que las especies *A. bestiarum* y *A. salmonicida* no pueden identificarse mediante pruebas bioquímicas ni por métodos genéticos. Un 60% de las cepas estudiadas, que habían sido identificadas bioquímicamente como pertenecientes a *A. bestiarum* o *A. salmonicida*, presentaron una mezcla de operones ribosómicos de ambas especies, lo que impidió su separación utilizando los RFLP del gen 16S rRNA. El análisis filogenético de estas especies basado en las secuencias del gen *rpo*D y el análisis conjunto con el gen *gyr*B parecen indicar, no obstante, una divergencia entre estas especies.

5. Las cepas de origen clínico de las especies *A. hydrophila*, *A. caviae* y *A. veronii* han resultado ser sensibles a las cefalosporinas, con excepción de la cefazolina. Los aminoglucósidos más efectivos frente a dichas especies fueron la gentamicina y la amikacina, y las quinolonas más efectivas fueron el ofloxacino y ciprofloxacino.

6. Se ha evidenciado que *Aeromonas* es el causante del 2% de las diarreas del viajero, y las especies más frecuentemente involucradas fueron *A. veronii* bt sobria y *A. caviae*. Según los datos aportados en la presente tesis, las quinolonas o las cefalosporinas de tercera generación deberían considerarse el tratamiento de elección para este tipo de infecciones.

7. La técnica de ERIC-PCR fue más discriminativa que la de REP-PCR y que los RFLP del espaciador intergénico 16S-23S para el tipado de cepas de *Aeromonas*. Sin embargo, la combinación simultánea de dos de éstas técnicas mejoró los resultados, alcanzándose el mayor poder discriminativo con la utilización simultánea de todas ellas. Se demostró que las cepas tendían a agruparse en función de su origen geográfico.

8. La actividad ß-hemolítica y los genes que codifican para los factores de virulencia aerolisina/hemolisina y DNasas, han sido más frecuentes en las cepas clínicas que en las ambientales. Los genes para la serina proteasa, glicerofosfolípido-colesterol aciltransferasa y lipasas extracelulares (*lip*, *plc*, *pla*, *lip*H3), así como la actividad fenotípica que los caracteriza, han sido detectados en todas las especies estudiadas, no encontrándose diferencias entre las cepas de origen clínico y ambiental.

9. Se ha demostrado una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de genes que codifican para los factores de virulencia aerolisina/hemolisina y serina proteasa y la actividad ß-hemolítica, lo que sugiere, tal como han indicado otros autores, que la serina proteasa podría actuar como activador de la aerolisina/hemolisina.

10. La especie *A. popoffii* representó un 8% de las cepas aisladas en aguas superficiales y un 6.8% en las de agua de mar, siendo la primera vez que dicha especie se aisló en este último hábitat. La presencia, en la citada especie, de los factores de virulencia aerolisina/hemolisina, serina proteasa, glicerofosfolípido-colesterol aciltransferasa y lipasas extracelulares (*lip*, *plc*, *pla*, *lip*H3), así como la actividad fenotípica que los caracteriza, fue comparable a la de las especies de interés clínico.

11. En *A. jandaei*, el factor de virulencia más prevalente ha sido el gen del flagelo lateral (gen *laf*A), seguido de la aerolisina/hemolisina, la enterotoxina citotónica termolábil (*alt*) y la enterotoxina citotónica termoestable (*ast*). Estos genes se encontraron con más frecuencia en cepas clínicas que en cepas ambientales, aunque sólo una cepa de origen intestinal presentó los genes *alt* y *ast* simultáneamente.

12. Las especies más frecuentemente aisladas en muestras de pescado destinado al consumo humano (tilapia y carpa) fueron *A. salmonicida*, *A. bestiarum*, *A. veronii*, *A. sobria*, *A. encheleia* y *A. hydrophila*, siendo las tres primeras especies las más virulentas.

13. El hecho de que por primera vez se haya demostrado la presencia del sistema de secreción tipo III en la mayoría de cepas clínicas de *A. veronii* y *A. hydrophila*, demuestra que dichas cepas poseen un potencial virulento comparable al de otros patógenos tales como *Escherichia coli*, *Yersinia* spp. y *Salmonella* spp.