

Peran Hormon Katekolamin Dalam Meningkatkan Virulensi *Aeromonas hydrophila*

The Role of Catecholamine Hormone to Increase the Virulence of *Aeromonas hydrophila*

(Kajian Pustaka Sistematis/Systematic Literature Review)

Ni Putu Widiantari¹, Yan Ramona^{1,3}, Pande Gde Sasmita Julyantoro²

¹Program Studi Magister Ilmu Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Udayana,

²Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Kelautan dan Perikanan, Universitas Udayana

³Integrated Laboratory for Biosciences and Biotechnology, Udayana University

Email: yan_ramona@unud.ac.id

INTISARI

Lingkungan yang ekstrim telah banyak dilaporkan dapat memicu terjadinya stres pada makhluk hidup yang terpapar, sehingga mengganggu kondisi homeostasinya. Dalam keadaan tertekan, organisme vertebrata akan melepas hormon-hormon stres, seperti katekolamin Norepinephrin (NE) dan Dopamin (Dopa), yang melibatkan axis *hypothalamus-sympathetic-chromaffin* (HSC) dan axis *hypothalamus-pituitary-interrenal* (HPI). Kedua sistem axis tersebut berturut-turut menghasilkan hormon katekolamin (antara lain adrenalin, noradrenalin, dan dopamin) dan hormon kortikosteroid (terutama kortisol). Kehadiran kedua kelompok hormon tersebut pada sistem peredaran darah inang berperan sebagai signal bagi bakteri patogen, seperti *Aeromonas hydrophila*, yang umum ditemukan dalam akuakultur, untuk memulai proses infeksi. Bagi bakteri patogen, seperti *Aeromonas hydrophila*, kedua kelompok hormon ini berperan dalam menstimulasi ekspresi gen-gen pengode pembentukan flagella (memungkinkan sel bakteri berenang dengan cepat menuju inangnya), pembentukan pilli, produksi toksin, dan proses pembentukan *biofilm*. Kondisi stres pada ikan (yang memicu teresksesnya hormon katekolamin) dapat menurunkan kerja sistem imun ikan sampai pada titik terendahnya, dan hal ini akan dipakai sebagai kesempatan oleh *Aeromonas hydrophila* untuk meningkatkan laju metabolisme, pertumbuhan, dan virulensinya pada ikan yang mengalami stres. Secara spesifik, hormon katekolamin juga dapat berperan sebagai signal bagi *Aeromonas hydrophila* untuk mengaktifkan gen *ferric uptake regulator* (gen *fur*), sehingga bakteri patogen ini mampu mengkhelat zat besi (Fe^{3+}) dari lingkungannya secara optimum yang berujung pada pertumbuhan berlebih dari patogen tersebut dan peningkatan patogenitasnya.

Kata kunci: Akuakultur, Endokrinologi mikroba, Patogenisitas, Stres.

ABSTRACT

Extreme environmental conditions have been widely reported to trigger stress in exposed living organisms, and such conditions affect their homeostatics. Stress conditions lead vertebrates to release stress hormones, such as catecholamine Norepinephrin (NE) and Dopamine (Dopamine), which involve the hypothalamus-sympathetic-chromaffin (HSC) axis and the hypothalamus-pituitary-interrenal axis (HPI axis). These two axis systems produce catecholamine hormones (including adrenaline, noradrenaline, and dopamine) and corticosteroid hormones (especially cortisol). The presence of these two groups of hormones in the circulatory system of the hosts can act as a signal for pathogenic

bacteria, such as *Aeromonas hydrophilla* commonly found in aquaculture, to start their infection process. These two types of hormones play a role in the expression of *Aeromonas hydrophilla* genes encoding formation of flagella (allowing bacterial cells to swim rapidly to their host), pilli, toxin production, and activation of biofilm formation process. The stress conditions experienced by fishes (which triggers the secretion of catecholamine hormones) can significantly reduce the fish's immune system to function, and this will be exploited by *Aeromonas hydrophilla* to increase its metabolic rate, growth, and virulence in such stressed fish. Specifically, catecholamine hormones can also act as a signal for the *Aeromonas hydrophilla* to activate the ferric uptake regulator gene (*fur* gene), allowing this pathogenic bacterium to optimally chelate ions of iron (Fe^{3+}) from its environment, resulting in the excessive growth of the pathogen and an increase in its pathogenicity.

Keywords: Aquaculture, Microbial endocrinology, Pathogenicity, Stress

PENDAHULUAN

Stres merupakan suatu respon kompensasi yang sangat kompleks dari organisme yang terpapar kondisi ekstrim, dan bertujuan untuk mempertahankan keseimbangan internal sistem biologis yang dikenal dengan homeostasis (Jentsch *et al.*, 2013). Faktor lingkungan ekstrim yang dapat memicu terjadinya stres antara lain, kekeringan, kondisi lingkungan yang minim oksigen, suhu tinggi, atau keterbatasan sumber nutrisi yang tersedia bagi organisme tersebut. Kemampuan suatu organisme untuk mempertahankan proses kehidupannya sangat ditentukan oleh kemampuan sistem fisiologisnya untuk mempertahankan homeostasisnya (Modell *et al.*, 2015). Rentang toleransi organisme dalam mempertahankan kondisi homeostasis tersebut bervariasi dalam suatu komunitas atau dalam tingkat populasi (Sarkodie *et al.*, 2019). Antar individu dalam suatu populasi juga terjadi variasi toleransi terhadap faktor stres yang ada disekitarnya. Kemampuan mentoleransi kadar garam misalnya, organisme dikelompokkan menjadi kelompok stenohalin (toleransi sempit terhadap perubahan kadar garam) dan eurihalin (toleransi luas terhadap perubahan kadar garam) (Thabet *et al.*, 2017).

Secara umum, bila terjadi perubahan kondisi lingkungan, organisme akan beradaptasi dengan kondisi barunya melalui adaptasi perilaku, morfologi, atau fisiologi. Adaptasi perilaku misalnya dilakukan dengan menjauhi kondisi yang tidak nyaman baginya (Modell *et al.*, 2015). Adaptasi morfologi umumnya melibatkan proses evolusi yang mengarah pada perubahan bentuk tubuh organisme, sehingga

bentuk baru yang muncul merupakan bentuk yang paling ideal untuk mengkompensasi perubahan kondisi lingkungan. Proses adaptasi morfologi ini dapat dilihat dari teori Darwin dan Lamarck yang secara detail menjelaskan perubahan morfologi pada organisme akibat adanya perubahan kondisi lingkungan (Burkhardt, 2013). Dalam proses adaptasi, makhluk hidup sering mengalami tekanan oleh kondisi lingkungan, sehingga sering terjadi kondisi stres pada organisme tersebut. Kondisi ini akan memicu diproduksinya hormone-hormon stres, seperti katekolamin, oleh organisme yang terpapar pada lingkungan ekstrim.

Liu *et al.* (2020) secara komprehensif dan mendalam mereview tentang hormon katekolamin dan perannya bagi organisme yang terpapar lingkungan ekstrim. Dalam *review* tersebut dijelaskan bahwa hormon ini sering disebut dengan adrenalin atau epinefrin yang prekursornya juga diberi nama yang berbeda berturut-turut sebagai noradrenalin dan norepinefrin. Menurut Torabi Delshad *et al.* (2019) katekolamin merupakan salah satu senyawa kimia yang berperan penting dalam pengaturan proses fisiologi dan perkembangan berbagai penyakit yang berkaitan dengan sistem saraf, psikologi, endokrin/kelenjar, dan sistem peredaran darah. Selain hormon ini, dopamine, norepinefrin atau noradrenalin juga disebutkan berperan dalam mengatur fisiologi dan perkembangan penyakit-penyakit tersebut.

Hormon stres katekolamin disebutkan bertanggung jawab dalam fenomena *signaling* neuroendokrin pada organisme multiseluler (Pande *et al.*, 2014), sehingga proses infeksi

oleh patogen dapat terinisiasi atau dimulai. Disekresikannya hormon ini ke dalam sistem peredaran dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan penurunan fungsi imunitas pada hewan (termasuk manusia), sehingga dapat meningkatkan risiko infeksi oleh patogen (Sarkodie *et al.*, 2019). Kondisi ekstrim yang dapat memicu stres pada hewan dapat menstimulasi sekresi hormon katekolamin seperti epinefrin, norepinefrin, dopamin dan kortisol ke dalam sistem peredarannya (Qin *et al.*, 2023). Pelepasan hormon stres katekolamin ini akan mempengaruhi respon imun (cenderung membuat sistem imun hewan menjadi lemah) pada invetrebata dan vertebrata, sehingga menjadi hewan-hewan tersebut lebih mudah diinfeksi oleh pathogen (Cambronel *et al.*, 2020). Tujuan atau fokus utama dari telaah pustaka ini adalah untuk mengkaji faktor-faktor virulensi bakteri *Aeromonas hydrophila* terkait pelepasan hormon stres katekolamin (oleh inangnya) yang berperan dalam meningkatkan virulensinya.

RESPON STRES PADA INANG

Adanya pemicu stress (*stressor/stress factor*) dapat menyebabkan terjadinya berbagai macam mekanisme fisiologis pada organisme yang bertujuan untuk mengkompensasi ketidakseimbangan dalam tubuhnya (Modell *et al.* 2015; Thabet *et al.* 2017). Respons stres ini melibatkan dua sistem axis, yaitu axis *hypothalamus-sympathetic-chromaffin* (HSC) yang menghasilkan hormon katekolamin (antara lain adrenalin, noradrenalin, dan dopamine) dan axis *hypothalamus – pituitary - interrenal* (HPI) yang menghasilkan hormon kortikosteroid, terutama kortisol (Skrzynska *et al.*, 2018). Kondisi stres pada suatu organisme (hewan inang) berpengaruh langsung pada fungsi barier usus dan penurunan sistem imunnya (Torabi Delshad *et al.*, 2019). Penelitian yang dilakukan oleh Pande *et al.* (2014) dan Qin *et al.* (2023) menunjukkan bahwa bakteri patogen memiliki sistem deteksi spesifik terhadap kehadiran hormon stres dalam tubuh inangnya. Menurut Cao *et al.* (2021) kondisi stress pada inang mempengaruhi pertumbuhan dan virulensi

bakteri patogen tersebut, karena kehadiran hormone ini merupakan sinyal bagi patogen untuk tumbuh dan menginfeksi inangnya. Hal serupa juga ditegaskan oleh Torabi Delshad *et al.* (2019) yang menyatakan bahwa kondisi stres pada inang memberikan dampak pada interaksi antara *host dan pathogen*, dan hal ini berimplikasi pada penurunan fungsi sistem imun dari *host* (inang). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Stratev dan Odeyemi (2016) ditemukan bahwa hormon stres katekolamin dapat meningkatkan ekspresi gen pengkode pembentukan pili, toksin shiga, dan senyawa-senyawa pemicu perlekatan bakteri patogen pada jaringan usus ikan.

Salah satu patogen yang sering menginfeksi ikan air tawar adalah *Aeromonas hydrophila*. Menurut Kartikaningsih *et al.* (2020) bakteri ini merupakan bakteri Gram negatif dengan kemampuan osmoregulasi yang baik, sehingga dapat bertahan hidup dalam jangka waktu lama di perairan tawar, perairan payau, atau perairan laut yang salinitasnya cukup tinggi. Ikan yang terpapar enzim serta toksin dari *A. hydrophila* akan mengalami gejala klinis seperti *haemorrhagic septicaemia* atau perdarahan yang meluas pada permukaan kulitnya (Sugiani *et al.*, 2018). Gejala ini akan berlanjut dengan munculnya *ulcer* luka terbuka pada permukaan atau jaringan dalam tubuh ikan, sehingga akan muncul *dropsy* atau pembengkakan pada abdomen ikan (Selvia and Pangestuti, 2013).

Faktor virulensi yang dihasilkan oleh patogen merupakan produk dari ekspresi gen yang berperan dalam membantu patogen melakukan kontak dan mendegradasi sel-sel inangnya (Torabi Delshad *et al.*, 2019). Hal ini memicu penelitian yang mengarah pada pengendalian patogen dengan cara menghambat produksi faktor virulensinya. Strategi pengendalian seperti ini dikenal dengan '*antivirulence therapy*' dan menjadi metoda alternatif yang lebih menarik daripada penggunaan antibiotik untuk mengontrol infeksi bakteri pada organisme perairan (Pande *et al.*, 2014). Sekresi hormon stres pada tubuh inang akan menyebabkan peningkatan virulensi patogen (Delshad *et al.*, 2018). Dalam dekade

terakhir, penelitian mengenai *microbial endocrinology* yang berfokus pada peranan katekolamin terhadap faktor virulensi *Aeromonas hydrophila*, secara intensif telah dilakukan di seluruh dunia (Gao *et al.*, 2019).

FAKTOR VIRULENSI BAKTERI

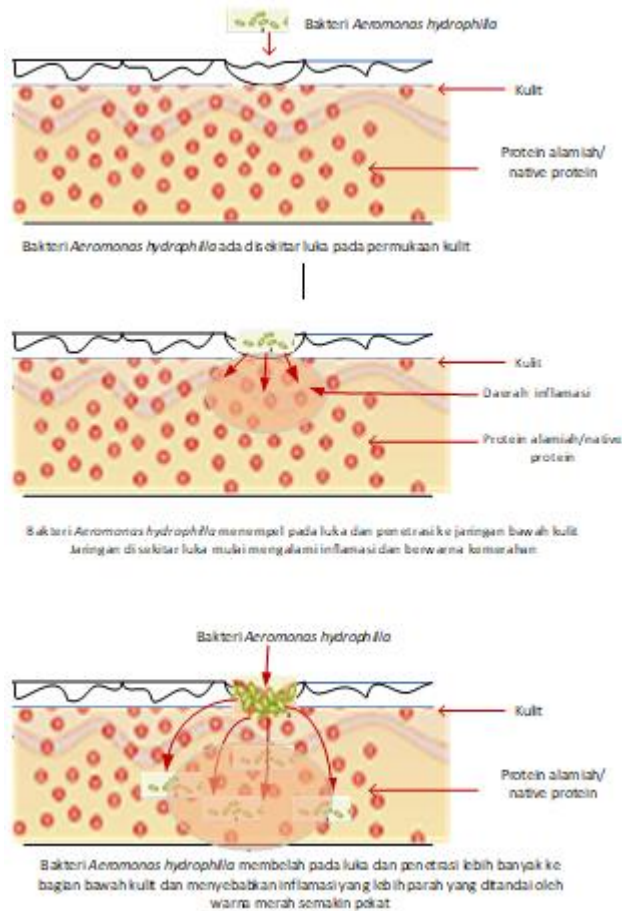
Aeromonas hydrophila

Dalam sistem perairan, kondisi stres pada ikan dapat dikenali sebagai signal oleh bakteri patogen untuk memulai proses infeksi (Gao *et al.*, 2019). Menurut Sarkodie *et al.* (2019) kondisi stres pada ikan diidentifikasi oleh patogen sebagai salah satu faktor penting (sinyal) untuk menginfeksi inangnya. Kondisi ini menyebabkan terjadinya wabah infeksi pada industri akuakultur dan menyebabkan terjadinya kerugian signifikan pada industri perikanan. Kehadiran katekolamin (noradrenalin dan dopamin) yang dipicu oleh kondisi stres berperan sebagai neurotransmitter untuk terjadinya respon stres yang dikenal dengan “*fight or flight*” respon (Sarkodie *et al.*, 2019).

Gao *et al.* (2019) juga menyatakan bahwa terdapat korelasi positif antara konsentrasi hormon stres dalam tubuh organisme perairan dengan laju infeksi bakteri pada organisme tersebut. Verbrugghe *et al.* (2012) melaporkan bahwa konsentrasi hormon stres katekolamin mempengaruhi laju pertumbuhan, motilitas, pembentukan *biofilm*, dan aktivitas patogen memecah protein inangnya. Proses ini melibatkan proses *specific sensing system*. Bukti adanya *specific sensing system* pada bakteri, yang disebabkan oleh sekresi hormon stres pada inangnya, juga dilaporkan oleh Delshad *et al.* (2019).

Kelimpahan yang tinggi dari patogen *Aeromonas hydrophila* dalam sistem perairan dapat menjadi bencana bagi hewan perairan, terutama pada ikan yang dibudidayakan, karena akan meningkatkan insiden infeksi dan menyebabkan kerugian yang sangat besar. Bila kondisi perairan tersebut sangat ekstrim dan memicu terjadinya stres pada ikan yang dibudidayakan didalamnya, maka kemungkinan terjadinya infeksi pada ikan menjadi meningkat

(Sarkodie *et al.*, 2019). Ikan akan merespon kondisi stres ini dengan cara melepas hormon-hormon stres, termasuk katekolamin. Pada kondisi seperti ini kondisi sistem imunnya berada pada titik terendah, sehingga menjadi sangat mudah terinfeksi oleh bakteri patogen (*A. hydrophila*). Menempelnya patogen pada permukaan tubuh ikan akan memicu terjadinya luka kecil pada permukaan kulit ikan yang disebabkan oleh aktivitas enzim protease yang dilepaskan oleh patogen pada permukaan kulit ikan (Ganesan *et al.*, 2023). Ukuran luka ini kemudian membesar, sehingga memungkinkan patogen tersebut menyebar dan menginfeksi organ bagian dalam dari inangnya. Proses ini umumnya diikuti oleh terjadinya hemolisis pada inangnya (Chen *et al.*, 2022b). Proses infeksi ini melibatkan ekspresi faktor virulensi, yaitu diekspresikannya beberapa gen, dan produk dari gen-gen tersebut memungkinkan patogen untuk merusak sel inang (Sandrini *et al.*, 2014). Kemampuan patogen dalam motilitas, adesi, degradasi jaringan inang, akuisisi besi, dan menyamarkan diri dari sistem imun inang juga disebutkan sebagai faktor penting dalam virulensi patogen tersebut (Moliner *et al.*, 2019). Model hipotesis infeksi luka yang disebabkan oleh *Aeromonas* sp. pada ikan dibahas secara mendalam oleh Janda and Abbott (2010), dan secara singkat ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Model hipotesis infeksi luka oleh *Aeromonas* sp. yang diadopsi, dimodifikasi dan direproduksi dari publikasi Janda and Abbott (2010).

Dalam laporannya Janda dan Abbott (2010) menyebutkan bahwa proses infeksi *Aeromonas* sp. pada ikan dapat dibagi menjadi 3 tahapan, yaitu (1) Penempelan dan kolonisasi awal pada situs luka yang ada pada permukaan tubuh ikan; (2) Segera setelah menempel, bakteri patogen tersebut akan melepaskan enzim proteasenya untuk mencerna komponen protein dari daging ikan yang telah mengalami perlukaan. Energi yang dihasilkan dari proses metabolisme protein akan dipakai oleh bakteri patogen untuk berproliferasi dengan cepat; (3) Dengan kemampuan motilitasnya, bakteri *Aeromonas* akan bermigrasi (kemotaksis) ke bagian dalam tubuh ikan dan masuk ke sistem peredarannya menuju ke seluruh organ yang konsentrasi proteinnya lebih tinggi. Degradasi jaringan dan protein organ vital pada ikan akan menyebabkan gagalnya fungsi berbagai organ

dalam pada ikan, dan hal ini akan memicu terjadinya kematian massal pada ikan yang dibudidayakan (Dias *et al.*, 2016; Semwal *et al.*, 2023).

Terjadinya aktivitas hemolisis pada ikan biasanya ditunjukkan oleh munculnya bercak-bercak merah pada permukaan tubuh ikan, yang disebabkan oleh lisisnya sel-sel darah merah akibat aktivitas hemolisin dari patogen ini (Sugiani *et al.*, 2018; Chen *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2023).

Flagella dan Pili

Pada bakteri *Aeromonas* terdapat dua jenis flagella, yaitu flagella polar dan flagella lateral (Kartikaningsih *et al.*, 2020). Pembentukan flagella polar pada *A. piscicola* AH-3, dikode oleh beberapa gen, antara lain gen *flaAB*, *flaH*, *fliA*, *fliM*, *maf-1*, dan *flrC* (Rasmussen-Ivey *et al.*, 2016; Mendoza-Barberá *et al.*, 2021). Mutasi pada gen-gen tersebut dapat mengganggu proses pembentukan flagella polar, sehingga menurunkan kemampuan motilitas bakteri *Aeromonas* menuju tempat perlekatan untuk membentuk biofilm (Forn-Cuní *et al.*, 2021). Lau *et al.* (2023) melaporkan penelitiannya tentang kontribusi kedua jenis flagella tersebut bagi *Aeromonas* dalam mengkolonisasi dinding usus. Dalam penelitian tersebut disimpulkan bahwa terjadi penurunan kemampuan mutan *Aeromonas* dalam membentuk biofilm (akibat mutasi pada gen pengkode pembentukan flagella) sebesar 30% jika dibandingkan dengan strain non-mutan. Lebih lanjut disebutkan juga bahwa kemampuan motilitas mutan dalam merespon kehadiran senyawa kimia (kemampuan kemotaksisnya) berkurang lebih dari 80% jika dibandingkan dengan strain non-mutannya (*wild type*). Kondisi ini secara umum akan menurunkan patogenitas bakteri ini untuk menginfeksi inangnya (Forn-Cuní *et al.*, 2021; Janda and Abbott, 2010). Lau *et al.* (2023) dan Mendoza-Barberá *et al.*, 2021) berkesimpulan bahwa kedua jenis flagella ini memegang peranan yang sangat penting dalam proses pembentukan biofilm pada permukaan sel inang yang diinfeksi. Dalam sebuah review/kajian terbaru yang ditulis oleh Fernández-Bravo and

Figueras (2020) dijelaskan secara detail dan mendalam peran dari kedua jenis flagella yang dimiliki oleh bakteri kelompok *Aeromonas*. Dari kajian ini juga disimpulkan bahwa kedua jenis flagella tersebut berperan penting bagi patogen ini untuk berenang mendekati inangnya (fungsi flagella polar) dan menempel pada permukaan tubuh inangnya untuk membentuk biofilm, untuk selanjutnya menginfeksi bagian dalam inangnya (fungsi dari flagella lateral).

Pada species *Aeromonas hydrophila* terdapat dua gen (gen *flgC* dan gen *flgF*) yang berkontribusi dalam kemampuan motilitas bakteri ini (Qin *et al.*, 2016). Gen *flgC* disebutkan tidak mempengaruhi biosintesis flagela, tetapi diperlukan untuk motilitas penuh. Sedangkan gen *flgE* berkontribusi pada biosintesis flagela dan motilitas. Merino dan Tomas (2016) melaporkan bahwa terdapat protein yang disebut dengan protein FlgT pada bakteri *Aeromonas hydrophila* yang berperan dalam stabilitas dan rotasi flagella polar. Protein ini dikatakan tidak berperan dalam perlekatan oleh flagella lateral yang dimiliki oleh species ini. Lebih jauh disebutkan oleh Merino and Tomas (2016) bahwa kehilangan kemampuan bakteri ini dalam mengekspresikan gen pengkode produksi protein FlgT menyebabkan kehilangan kemampuan mutan ini untuk berenang (kehilangan motilitasnya).

Pemahaman mekanisme kehilangan kemampuan bakteri *Aeromonas* dalam menyebabkan infeksi yang disebabkan oleh mutasi gen-gen pengkode pembentukan flagella seperti diatas merupakan pilihan bijak dalam mengontrol patogen ini dalam sistem perairan (Rasmussen-Ivey *et al.*, 2016). Metoda ini merupakan metoda yang ramah lingkungan yang dapat mengurangi pemakaian antibiotika (dalam mengontrol patogen yang bersifat motil), sehingga produk perikanan mempunyai nilai jual dan daya saing yang lebih tinggi. Saat ini sebagian besar negara tujuan ekspor mensyaratkan produk perikanan/biomassa perairan bebas dari pemakaian antibiotika untuk mengontrol patogen atau memperpanjang masa simpan ikan hasil budidaya. Memutasi gen-gen penyebab peningkatan patogenitas patogen dalam budidaya ikan merupakan metoda yang

sangat menjanjikan dimasa yang akan datang, untuk mengurangi pemakaian antibiotika yang cenderung membahayakan kesehatan dan munculnya strain-strain mutan yang resisten terhadap antibiotika (Defoirdt, 2013; Lau *et al.* (2023).

Selain flagella, pili pada bakteri merupakan komponen penting dalam mengkolonisasi permukaan internal inangnya. Pili merupakan struktur filamentus yang terdapat pada permukaan sel bakteri, yang tersusun oleh sub unit-sub unit yang disebut dengan pillin (Fernández-Bravo and Figueras, 2020). Pada kelompok bakteri *Aeromonas*, pilli merupakan salah satu komponen yang berperan sebagai salah satu faktor virulensi bakteri ini (Rasmussen-Ivey *et al.*, 2016; Cao *et al.*, 2021). Selain pilli, lapisan S, kapsula, dan lipopolisakarida juga berperan dalam meningkatkan faktor virulen dari bakteri *Aeromonas* (Tomas, 2012; Pessoa *et al.*, 2020).

Pili juga berperan penting dalam proses konjugasi, sehingga memungkinkan terjadinya pertukaran materi genetik diantara populasi bakteri tersebut (Bhowmick and Bhattacharjee, 2018). Proses konjugasi ini memungkinkan munculnya variasi genetik diantara populasi species bakteri tersebut (Tomas, 2012; Bhowmick and Bhattacharjee, 2018). Menurut Qin *et al.* (2014) dan Du *et al.* (2016), pilli juga berperan dalam pembentukan *biofilm*, agregasi sel, dan proses invasi patogen pada sel inangnya. Kirov *et al.* (2000) secara spesifik mempelajari gen-gen yang terlibat dalam produksi pilli pada *A. hydrophila* strain AH-65. Dalam penelitian ini dilaporkan bahwa gen *bfp* dan gen *tap* terlibat dalam produksi pili pada spesies/strain ini.

Adhesin

Keberadaan adhesin bakteri patogen pada sel dan permukaan mukosa jaringan inangnya merupakan suatu langkah awal terjadinya proses infeksi (Stratev and Odeyemi, 2016; Fadel and El-Lamie, 2019). Fungsi dari adhesin bagi bakteri adalah untuk dapat bertahan/terhindar dari *physical removal* yang diakibatkan oleh adanya aktivitas hidrodinamik

di dalam tubuh inangnya (Rasmussen-Ivey *et al.*, 2016). Adhesin akan memfasilitasi bakteri patogen untuk menginjeksikan racun atau melepaskan enzim litik sehingga mampu menginfeksi dan menembus jaringan bagian dalam inangnya. Huang *et al.* (2015) and Fadel and El-Lamie (2019) menyatakan bahwa adhesin berperan penting dalam memediasi pembentukan *biofilm*, dan memfasilitasi pembelahan sel. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Rasmussen-Ivey *et al.* (2016) yang menyatakan bahwa terjadinya adhesi bakteri patogen pada inang dianggap sebagai faktor virulensi bakteri patogen.

Dalam kurun waktu dua dekade terakhir, mekanisme kerja adhesin dalam meningkatkan virulensi bakteri patogen dijelaskan dalam beberapa penelitian untuk menjawab fenomena tersebut. Brown *et al.* (2010) misalnya, mengungkapkan bahwa gen *PilE* dan *PilV* terlibat dalam adhesi meningokokus pada sel epitel. Lebih lanjut Mahmoud *et al.* (2016) menyatakan bahwa molekul adhesi SSO1327 memainkan peran penting dalam patogenesis *Shigella sonnei*. Patogen perairan seperti pada *A. hydrophila* juga memiliki faktor virulensi yang melibatkan adesin (Rasmussen-Ivey *et al.*, 2016). Adhesin bakteri *A. hydrophila* dapat meningkatkan kemampuan bakteri tersebut untuk menempel pada permukaan sel inang yang dilapisi lendir. Dalam perlekatan ini lipopolisakarida *O-antigen* memainkan peran penting adhesin yang dihasilkan oleh *A. hydrophila* (Qin *et al.*, 2016). Namun, mekanisme interaksi adhesin ini pada lendir kulit ikan masih belum dapat dijelaskan secara lengkap. Penelitian Qin *et al.* (2016) berusaha mengungkap gen-gen yang berperan dalam proses ini. Dalam penelitiannya terungkap terdapat 4 gen (*cytb4*, *rbsR*, *flgC* dan *flgE*) yang terlibat dalam pembentukan adhesin pada *A. hydrophila*. Dalam laporan ini juga disebutkan bahwa gangguan yang terjadi pada salah satu gen tersebut dapat menurunkan sifat fungsional dari adhesin bakteri ini dalam proses perlekatan.

Sistem Sekresi Tipe III, Hemolisin, Protease

Pada bakteri gram negative, alur sekresi toksin terbagi menjadi 4 tipe (tipe I–VI).

Pengelompokan ini berdasarkan pada karakteristik dari mekanisme sekresinya (Cai *et al.*, 2022). Pada *Aeromonas hydrophila*, sistem sekresi ini termasuk kedalam tipe III (T3SS), dimana bakteri ini menghasilkan suatu struktur yang menyerupai jarum dan berfungsi untuk menyuntikkan efektor *toxin* ke dalam sel inang (Frey and Origgi, 2016). Efektor *Aeromonas* spp. ini dapat mengubah transduksi sinyal dalam sel inangnya, sehingga ketahanan hidup, invasi atau perlekatannya menjadi meningkat (Rasmussen-Ivey *et al.*, 2016).

Gen *Aero* dan gen *hlyA* pada *A. hydrophila* diklaim bertanggung jawab dalam produksi racun *aerolysin*, hemolisin (Dong *et al.*, 2021), dan produksi enterotoksin (Rasmussen-Ivey *et al.*, 2016). Fungsi dari racun-racun tersebut adalah untuk melisis sel-sel darah pada inangnya dengan cara mendegradasi/memecah membran sel (aktivitas fosfolipase) (Dong *et al.*, 2021). Lebih lanjut menurut Dong *et al.* (2021) bahwa *aerolysin* dapat menyerang sel-sel epitel dan menyebabkan gastroenteritis serta penyakit *hemorrhagic septicaemia* yang ditandai oleh munculnya luka pada permukaan tubuh inang. Secara *in vitro* aktivitas hemolitik dapat diamati pada medium agar yang mengandung sel darah hewan, dan hasilnya ditandai oleh perubahan warna medium menjadi hijau atau terbentuknya zona bening di sekitar koloni yang tumbuh (Chen *et al.*, 2022b).

Dalam menginvasi inangnya, enzim protease memegang peran yang sangat penting bagi *A. hydrophila*. Enzim ini berperan dalam mengkatalisasi pemecahan protein dengan cara memotong ikatan peptida menjadi bentuk senyawa-senyawa yang lebih sederhana (asam amino atau oligopeptida). Takahashi *et al.* (2014) melaporkan bahwa protease yang dihasilkan oleh *A. hydrophila* sangat berperan dalam patogenitasnya, karena enzim ini dapat memecah berbagai protein inang, termasuk struktur ekstraselulernya yang tersusun dari berbagai macam protein (gelatin, fibroektin dan kolagen). Pada *A. hydrophila* terdapat dua jenis enzim protease ekstraseluler, yaitu protease serin dan elastase (Gao *et al.*, 2018; Ganesan *et al.*, 2023). Protease serin (yang proses

sintesisnya dikode oleh gen *ahp*) memiliki aktivitas kaseinolitik. Sementara itu, elastase memiliki aktivitas kaseinolitik dan elastolitik yang proses pembentukannya dikode oleh gen *ela* (Gao *et al.*, 2018). Kedua protease tersebut dapat memecah struktur sel dan jaringan inang, serta berperan dalam menyerap unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perbanyakan sel bakteri ini. Enzim-enzim protease ini juga dilaporkan dapat merusak makrofag inangnya (Wang *et al.*, 2019).

Pembentukan Biofilm

Biofilm merupakan lapisan tipis pada permukaan benda, termasuk permukaan tubuh ikan yang terbentuk oleh koloni sel dan matriks ekstraseluler yang sulit ditembus oleh senyawa toksik (Mohamed *et al.*, 2019), sehingga bakteri-bakteri yang terdapat didalamnya dapat bertahan hidup/resisten dari paparan antimikroba, detergen, atau respon imun dari inangnya (Chenia and Duma, 2017). Biofilm dapat terbentuk pada permukaan benda mati atau permukaan makhluk hidup yang merupakan inang dari suatu bakteri patogen (Mohamed *et al.*, 2019). Sebagian besar bakteri, termasuk *A. hydrophila* dapat membentuk biofilm melalui proses yang sangat kompleks dengan melibatkan matriks ekstraseluler yang dihasilkannya (Lau *et al.*, 2023). Menurut Talagrand-Reboul *et al.* (2017) *A. hydrophila* menunjukkan perilaku kehidupan sosial melalui komunikasi antar sel yang dikenal dengan *quorum sensing signal* yang diikuti oleh pembentukan biofilm. Penelitian tentang perilaku ini sudah dipelajari sejak tahun 1990 an, dan mekanisme molekuler dari kedua proses tersebut diulas secara tuntas oleh Talagrand-Reboul *et al.* (2017).

Pembentukan biofilm pada *Aeromonas* sp. dikode oleh gen spesifik (gen-gen pengkode pembentukan flagela, pili, dan biosintesis eksopolisakarida) (Cao *et al.*, 2021). Dalam akuakultur, biofilm dianggap sebagai *reservoir* bakteri patogen yang dapat menyebabkan efek merugikan pada organisme perairan (Lau *et al.*, 2023). *Aeromonas* spp. memiliki mekanisme regulasi multipel dalam proses pembentukan biofilm, dan hal ini berkaitan erat dengan produksi faktor virulensi (Rasmussen-Ivey *et*

al., 2016; Mohamed *et al.*, 2019). *Aeromonas* dilaporkan mempunyai kemampuan yang sangat baik dalam mengkolonisasi berbagai habitat. Secara mendasar, aspek-aspek yang berhubungan dengan kolonisasi *Aeromonas* pada permukaan sangat ditentukan oleh terbentuknya biofilm dan *signaling* interseluler (Mohamed *et al.*, 2019; Lau *et al.*, 2023). Penelitian pada kedua aspek tersebut (pembentukan biofilm dan *signaling* interseluler) sudah sangat banyak dilakukan. Mohamed *et al.* (2019) misalnya mempelajari dan melaporkan proses pembentukan biofilm dan kekerabatan genetik pada beberapa strain *Aeromonas* yang diisolasi dari manusia dan ikan. Dalam laporan ini disebutkan bahwa sebanyak 96% isolat yang diperoleh mempunyai kemampuan untuk membentuk biofilm, dengan kriteria lemah sampai kuat. Proses pembentukan biofilm ini berkorelasi positif dengan temperatur inkubasi, sehingga peneliti ini sampai pada kesimpulan bahwa *Aeromonas* yang diisolasi dari ikan dan manusia merupakan patogen potensial yang perlu diwaspadai, karena pembentukan biofilm dengan kriteria kuat sampai moderat terjadi pada temperatur inkubasi 35 °C.

Lau *et al.* (2023) memaparkan bahwa pada proses pematangan biofilm, akan terjadi modifikasi ekspresi gen flagellar akibat adanya *quorum sensing autoinducer*. Pada stadium tertentu dalam pematangan biofilm, kepadatan populasi bakteri akan meningkat, dan hal ini akan menghambat sintesis flagelin polar, tetapi merangsang aktivasi gen yang terlibat dalam pembentukan adhesin pada permukaan serta produksi EPS (eksopolisakarida) yang berfungsi sebagai matriks utama biofilm tersebut. Menurut Khajanchi *et al.* (2012) dan Kozlova *et al.* (2012) ekspresi gen *aha0701h* pada *Aeromonas* dapat menyebabkan penurunan laju formasi/pembentukan *biofilm*, karena terjadi disregulasi gen *fleN* (gen yang mengatur flagellar) dan gen *vpsT* (regulasi respon transkripsional). Hal ini dapat dipakai sebagai dasar dalam mengendalikan virulensi suatu bakteri patogen pada level ekspresi gen, karena salah satu faktor yang menyebabkan peningkatan virulensi suatu bakteri adalah

kemampuannya membentuk biofilm yang disebabkan oleh beberapa karakteristik, seperti motilitas dan proses pembentukan adhesin.

PERAN HORMON STRES DALAM MENINGKATKAN VIRULENSI BAKTERI

Stres sangat penting untuk kelangsungan hidup suatu organisme karena membentuk dasar dari respon *fight-or-flight*, yaitu suatu mekanisme bertahan hidup mendasar yang mempersiapkan tubuh suatu organisme untuk menantang atau melarikan diri dari ancaman tersebut (Sarkodie *et al.*, 2019). Mediator penting dari respon stres adalah hormon katekolamin, yang meliputi epinefrin (adrenalin), norepinefrin (noradrenalin) dan dopamin. Katekolamin disintesis dari tirosin yang memiliki cincin benzena dengan dua gugus hidroksil yang berdekatan dan rantai amina yang saling berhadapan (Liu *et al.*, 2020). Dalam kondisi tertentu yang memacu terjadinya stress pada makhluk hidup, sistem saraf simpatik akan merangsang kelenjar medula adrenal untuk mensekresikan hormon katekolamin, yang merupakan respon terhadap stres tersebut. Semua hormon, termasuk hormon katekolamin tidak memiliki saluran pembuangan, sehingga hormon-hormon tersebut didistribusikan ke seluruh tubuh termasuk ke dalam sistem pencernaan/*gastro intestine system* (GI) oleh sistem peredaran darah. Organ-organ pencernaan yang membentuk sistem pencernaan, merupakan organ-organ target dari bakteri patogen (Josenhans *et al.*, 2020). Pada sistem pencernaan, hormon stres katekolamin akan dideteksi oleh reseptor bakteri patogen sehingga dapat mengurangi kemampuan fungsi homeostasis sel inang, dan akhirnya akan melemahkan sistem imunnya (Cambronel *et al.*, 2020).

Bakteri patogen memiliki reseptor (tipe adrenergik) yang dapat mendeteksi keberadaan hormon katekolamin, yang berperan dalam memperantarai patogen tersebut untuk berikatan dengan hormon norepinefrin dan epinefrin (Josenhans *et al.*, 2020). Tipe reseptor lain yang dimiliki patogen adalah reseptor tipe dopaminergik yang dapat berikatan dengan dopamin (Cambronel *et al.*, 2020). Menurut

Moraes *et al.* (2022) reseptor adrenergik dapat diklasifikasikan menjadi 2 kelompok besar, yaitu kelompok α dan β dengan sub tipe $\alpha 1$ dan $\alpha 2$, dan sub tipe $\beta 1$, $\beta 2$ dan $\beta 3$. Sementara itu, reseptor dopamin memiliki paling sedikit 5 jenis reseptor, dan yang telah diteliti adalah reseptor D1 - D5. Adanya hormon katekolamin akan menyebabkan terjadinya proses autofosforilasi yang melibatkan reseptor *QseC* dan menyebabkan terjadi proses transfer fosfat intraseluler melalui regulator *QseB* (Qin *et al.*, 2023). Hal inilah yang mengawali kaskade/rangkaian reaksi fosforilasi di dalam sel bakteri untuk mengatur ekspresi gen virulensinya (Pande *et al.*, 2014; Qin *et al.*, 2023). Fungsi yang sama dari reseptor *QseB* dan *QseC* telah dilaporkan pada patogen (termasuk *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda* dan *Vibrio spp.*) yang menginfeksi hewan pada budidaya akuakultur (Torabi Delshad *et al.*, 2019). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Wang *et al.* (2011) pada bakteri *Edwardsiella tarda*, terindikasi bahwa reseptor *QseB* dan *QseC* mengatur motilitas dan transkripsi gen flagellar. Dengan sistem deteksi khusus oleh reseptor *QseB* dan *QseC* pada patogen terhadap kehadiran respon stress (katekolamin), menyebabkan terekspresinya gen-gen yang terlibat dalam faktor virulensi bakteri patogen tersebut untuk menginvasi dan merusak sistem pertahanan inangnya.

Penelitian lain yang menunjukkan bakteri patogen telah mengembangkan sistem deteksi spesifik (*sensing*) terhadap sekresi hormon stres oleh inangnya dilaporkan oleh Liu *et al.*, 2020). Tabel 1 menunjukkan beberapa penelitian terdahulu yang mengungkap fenomena korelasi dari pelepasan hormon stres katekolamin terhadap pertumbuhan dan peningkatan faktor virulensi berbagai patogen pada inang-inangnya (melalui mekanisme *quorum sensing*). Informasi yang dapat dibaca pada Tabel 1 adalah kehadiran hormon stres dapat memacu ekspresi gen yang terlibat dalam patogenesis bakteri patogen.

Penelitian terbaru yang dilakukan oleh Gao *et al.* (2019) melaporkan bahwa katekolamin terbukti meningkatkan laju pertumbuhan dan ekspresi gen virulensi dari

berbagai jenis bakteri Gram-negatif dan Gram-positif. Hasil penelitian ini juga menjelaskan bahwa bakteri pada saluran pencernaan, saluran pernapasan atau kulit, dapat mendeteksi perubahan neuroendokrin yang diakibatkan oleh efek stres pada inangnya. Kondisi stress ini merupakan signal bagi patogen untuk tumbuh dan menginfeksi inangnya, karena dalam kondisi stress sistem imun inang menjadi sangat rendah atau bahkan berada pada titik terendahnya (Pande *et al.*, 2014; Qin *et al.*, 2023). Menurut Sarkodie *et al.* (2019) hormon stress katekolamin dapat memacu pertumbuhan *in vitro* bakteri Gram-negatif (termasuk *Aeromonas* spp. dan *Vibrio* spp.), pada media yang mengandung minimal serum (*fetal bovine serum*) dalam waktu 24 jam. Hormon stress katekolamin epinefrin, norepinefrin, dan dopamine dapat memfasilitasi eliminasi besi dari transferrin dengan cara membentuk kompleks dengan senyawa ini (Dong *et al.*, 2016).

Zat besi merupakan elemen yang sangat diperlukan untuk pertumbuhan bakteri, proliferasi, dan virulensi. Dalam kondisi normal, zat besi pada hewan vertebrata akan dikhelat oleh protein yang disebut transferrin dengan afinitas yang tinggi, sehingga patogen akan mengalami kesulitan untuk mengakuisisi zat besi yang tersedia (Dong *et al.*, 2016). Pada kondisi stress dan hormon stress katekolamin disekresikan, bakteri patogen menyerap kompleks transferrin-besi (Tf-iron) dengan cara memanfaatkan *ferric uptake system* (Moliner *et al.*, 2019). Beberapa penelitian, seperti yang dilakukan oleh Gao *et al.* (2018); Pande *et al.* (2014); dan Dong *et al.* (2016) melaporkan bahwa terdapat korelasi positif antara stimulasi pertumbuhan bakteri patogen (melalui akuisisi

besi dari transferrin) dengan keberadaan hormone stress pada tubuh inangnya. Dalam hal ini, hormon stress katekolamin berikatan dengan transferrin dan menurunkan afinitas besi (akibat terjadinya perubahan muatan besi dari Fe^{3+} menjadi Fe^{2+}). Terjadinya proses reduksi zat besi seperti itu mengakibatkan melemahnya ikatan antara transferrin dan zat besi (kompleks Tf-iron menjadi melemah), sehingga kemampuan siderofor amonabaktin yang dihasilkan oleh bakteri patogen dalam mengkhelat besi menjadi meningkat. Hal ini akan meningkatkan laju pertumbuhan dan proliferasi sel bakteri, karena ketersediaan besi yang cukup untuk pertumbuhannya (Freestone, 2013; Dong *et al.*, 2016). Dong *et al.* (2016) secara spesifik melaporkan bahwa stimulasi pertumbuhan *A. hydrophila* yang diinduksi oleh hormon NE memerlukan sistem transduksi energi *TonB2*. Dalam laporan ini juga dijelaskan bahwa *TonB2* memfasilitasi reseptor membran luar dalam pengangkutan zat besi (*iron*) dari transferrin. Dari uraian diatas jelas terlihat bahwa ion besi memegang peran yang sangat penting dalam mempercepat pertumbuhan bakteri patohen (Dong *et al.*, 2016). Disekresikannya hormone stress akibat kondisi lingkungan yang tidak nyaman bagi organisme perairan (ikan) akan memberi signal untuk mengaktifkan gen *ferric uptake regulator* (gen *fur*) agar dapat mengkhelat zat besi sebanyak-banyaknya dari lingkungan inangnya, karena kehadiran hormone tersebut akan berikatan dengan transferrin dan melemahkan ikatan antara zat besi dengan transferrin (Dong *et al.*, 2016). Pada kondisi seperti ini, akan terjadi peningkatan patogenitas bakteri pathogen, termasuk *A. hydrophila* (Gao *et al.*, 2018; Dong *et al.*, 2016).

Tabel 1. Bakteri yang responsif terhadap hormon stress katekolamin

Spesies	Hormon stress katekolamin	Pertumbuhan	Virulensi	References
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	Noradrenaline	+		Ibrahim <i>et al.</i> (2021)
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Noradrenaline	+		Kinney <i>et al.</i> , 1999; Gao <i>et al.</i> , 2018 ; Dong <i>et al.</i> ,

2016				
<i>Bordetella bronchiseptica</i> , <i>B. pertussis</i>	Adrenaline, Dopamine, Noradrenaline	+	+	Anderson and Armstrong, 2006
<i>Compylobacter jejuni</i>	Noradrenaline	+	+	Cogan <i>et al.</i> , 2007
<i>Citrobacter freundii</i> , <i>Citrobacter rodentium</i>	Noradrenaline	+		Freestone <i>et al.</i> , 1999: O'Donnell <i>et al.</i> , 2006
<i>Enterobacter agglomerans</i> , <i>E. sakazaki</i>	Noradrenaline	+		Freestone <i>et al.</i> , 1999
<i>Enterococcus faecalis</i> , <i>E. cloacae</i>	Noradrenaline	+		Freestone <i>et al.</i> , 1999
<i>Escherichia coli</i>	Adrenaline, Noradrenaline, Isoprenaline, Dobutamine Dopamine	+	+	Freestone <i>et al.</i> , 1999: Bansal <i>et al.</i> , 2007: Green <i>et al.</i> , 2004
<i>Hafnia alvei</i>	Noradrenaline	+		Freestone <i>et al.</i> , 1999
<i>Helicobacter pylori</i>	Noradrenaline, Adrenaline, Dopamine	+		Doherty <i>et al.</i> , 2009
<i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>K. pneumoniae</i>	Noradrenaline	+		Freestone <i>et al.</i> , 1999
<i>Listeria monocytogenes</i>	Noradrenaline, Dopamine, Adrenaline	+		Freestone <i>et al.</i> , 1999: Coulanges <i>et al.</i> , 1997
<i>Morganella morgani</i>	Noradrenaline	+		Freestone <i>et al.</i> , 1999
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Noradrenaline	+	+	Freestone <i>et al.</i> , 1999: Alverdy <i>et al.</i> , 2000
<i>Salmonella enterica</i>	Noradrenaline, Adrenaline, Dopamine	+	+	Williams <i>et al.</i> , 2006: Toscano <i>et al.</i> , 2007: Freestone <i>et al.</i> , 2007
<i>Shigella sonnei</i> , <i>S. flexneri</i>	Noradrenaline	+		O'Donnell <i>et al.</i> , 2006
<i>Staphylococcus aureus</i>	Noradrenaline, Dopamine	+		Freestone <i>et al.</i> , 1999: Freestone <i>et al.</i> , 2008a
<i>Streptococcus dysgalactica</i>	Noradrenaline	+		Freestone <i>et al.</i> , 1999

<i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>V. mimicus</i> , <i>V. vulnificus</i> , <i>V. campbellii</i> , <i>V. anguillarum</i>	Noradrenaline, Dopamine, Noradrenaline	+	+	Lacoste <i>et al.</i> , 2001: Pande <i>et al.</i> , 2014
<i>Xanthomonas maltophila</i>	Noradrenaline	+		Freestone <i>et al.</i> , 1999
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Noradrenaline, Dopamine, Adrenaline	+		Freestone <i>et al.</i> , 1999: Roberts <i>et al.</i> , 2002

+: Menunjukkan hormon stres, inotrop atau metabolitnya menginduksi peningkatan pertumbuhan atau virulensi dari spesies bakteri.

KESIMPULAN

Kondisi ekstrim dapat memicu sekresi berbagai hormon stres, termasuk katekolamin, pada individu hewan peariran (ikan pada khususnya) yang terpapar kondisi tersebut. Meningkatnya konsentrasi hormon ini di dalam tubuh ikan berperan sebagai signal bagi *Aeromonas hydrophila* (patogen dari ikan) untuk mengekspresikan gen-gen pengkode pembentukan flagela, pilli, produksi toksin, dan proses perlekatan patogen pada permukaan tubuh inangnya (pembentukan biofilm). Kondisi stres pada ikan (yang memicu terekskresinya hormon katekolamin) dapat menurunkan kerja sistem imun ikan sampai pada titik terendahnya, dan hal ini akan dipakai sebagai kesempatan oleh *Aeromonas hydrophila* untuk meningkatkan laju metabolisme, pertumbuhan, dan virulensinya pada ikan yang mengalami stres. Dalam kasus yang lebih spesifik, hormon katekolamin berperan sebagai signal bagi *Aeromonas hydrophila* untuk mengaktifkan gen *ferric uptake regulator* (gen *fur*), sehingga bakteri patogen ini mampu mengkhelat zat besi (Fe^{3+}) dari lingkungannya secara optimum. Hal ini akan berdampak pada pertumbuhan berlebih dari patogen tersebut dan peningkatan patogenitasnya yang berujung pada penurunan kualitas produk akuakultur.

DAFTAR PUSTAKA

Alverdy, J., C. Holbrook., F. Rocha., L. Seiden., R. L. Wu and M. Musch. 2000. Gut-derived sepsis occurs when the right

pathogen with the right virulence genes meets the right host: evidence for in vivo virulence expression in *Pseudomonas aeruginosa*. *Ann. Surg.* 232: 480-489.

Anderson, M. T and S. K. Armstrong. 2006. The Bordetella Bfe system: Growth and transcriptional response to siderophores, catechols, and neuroendocrine catecholamines. *J. Bact.* 188: 5731-5740.

Bansal, T., D. Englert., J. Lee., M. Hegde., T. K. Wood and A. Jayaraman. 2007. Differential effects of epinephrine, norepinephrine, and indole on *Escherichia coli* O157:H7 chemotaxis, colonization and gene expression. *Infect. Immun.* 75: 4597-4607.

Bhowmick, U. D and S. Bhattachrjee. 2018. Bacteriological, Clinical and Virulence Aspects of *Aeromonas* -associated Diseases in Humans. *Polish Journal of Microbiology.* 67(2): 137-150.

Boukerb, A. M., M. CambroneL., S. Rodrigues., O. Mesguida., R. Knowlton., M. G. J. Feuilleley., M. Zommiti and N. Connil. 2021. Inter-Kingdom Signaling of Stress Hormones: Sensing, Transport and Modulation of Bacterial Physiology. *Frontiers in Microbiology.* 12: 690942.

Brown, D. R., S. Helaine., E. Carbonnelle and V. Pelicic. 2010. Systematic Functional Analysis Reveals That a Set of Seven Genes Is Involved in Fine-Tuning of the

- Multiple Functions Mediated by Type IV Pili in *Neisseria meningitidis*. *Infection and Immunity*. 78 (7): 3053–3063.
- Burkhardt, R. W. 2013. Lamarck, Evolution, and the Inheritance of Acquired Characters. *Genetics*. 194: 793–805.
- Cai, H., J. Yu., Y. Qiao., Y. Ma., J. Zheng., M. Lin., Q. Yan and L. Huang. 2022. Effect of the Type VI Secretion System Secreted Protein Hcp on the Virulence of *Aeromonas salmonicida*. *Microorganisms*. 10(12): 2307.
- Cambronel, M., F. Nilly., O. Mesguida., A. M. Boukerb., P. J. Racine., O. Baccouri., V. Borrel., J. Martel., F. Fécamp., R. Knowlton., K. Zimmermann., E. Domann., S. Rodrigues., M. Feuilloley and N. Connil. 2020. Influence of Catecholamines (Epinephrine/Norepinephrine) on Biofilm Formation and Adhesion in Pathogenic and Probiotic Strains of *Enterococcus faecalis*. *Frontiers in Microbiology*. 11: 1501.
- Cao, J., C. Liu., Q. Wang., D. Zhang., O. Chang., Y. Wang., C. Shi and L. Wang. 2021. Investigating of type IV pili to the pathogenicity of *Aeromonas schubertii*. *Aquaculture*. 530: 735800.
- Chen, Y., J. Wang., H. Cai., M. Lin., Y. Zhang and L. Huang. 2022a. Enhanced Hemolytic Activity of Mesophilic *Aeromonas salmonicida* SRW-OG1 Is Brought about by Elevated Temperatures. *Microorganisms*. 10(10): 2033.
- Chen, Y., J. Wang., H. Cai., M. Lin., Y. Zhang and L. Huang. 2022b. Enhanced Hemolytic Activity of Mesophilic *Aeromonas salmonicida* SRW-OG1 Is Brought about by Elevated Temperatures. *Microorganisms*. 10(10). 2033.
- Cogan, T. A., A. O. Thomas., L. E. Rees., A. H. Taylor., M. A. Jepson and P. H. Williams. 2007. Norepinephrine increases the pathogenic potential of *Campylobacter jejuni*. *Gut*. 56: 1060-1065.
- Coulanges, V., P. Andre and D. J. Vidon. 1997. Effect of siderophores, catecholamines, and catechol compounds on *Listeria* spp. growth in ironcomplexed medium. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 249: 526-530.
- Delshad, S. T., S. Soltanian., H. Sharifiyazdi and P. Bossier. 2019. Effect of catecholamine stress hormone (dopamine and norepinephrine) on growth, swimming motility, biofilm formation and virulence factors of *Yersinia ruckeri* *in vitro* and an *in vivo* evaluation in rainbow trout. *Journal of fish disease*. 42(4): 477-487.
- Dias, M. K. R., L. S. Sampaio., A. A. Proietti-Junior., E. T. O. Yoshioka., D. P. Rodrigues., A. F. R. Rodriguez., R. A. Ribeiro., F. S. E. D. V. Faria., R. O. A. Ozório and M. Tavares-Dias. 2016. Lethal dose and clinical signs of *Aeromonas hydrophila* in *Arapaima gigas* (Arapaimidae), the giant fish from Amazon. *Veterinary Microbiology*. 188: 12–15.
- Dong, J., L. Zhang., Y. Liu., N. Xu., S. Zhou., Y. Yang., Q. Yang and X. Ai. 2021. Luteolin decreases the pathogenicity of *Aeromonas hydrophila* via inhibiting the activity of aerolysin. *Virulence*. 12(1): 165–176.
- Dong, Y., J. Liu., M. Pang., H. Du., N. Wang., F. Awan., C. Lu and Y. Liu. 2016. Catecholamine-Stimulated Growth of *Aeromonas hydrophila* Requires the TonB2 Energy Transduction System but Is Independent of the Amonabactin Siderophore. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 6: 183.
- Doherty, N. C., A. Tobias., S. Watson and J. C. Atherton. 2009. The effect of the human gut-signalling hormone, norepinephrine, on the growth of the gastric pathogen

- Helicobacter pylori*. *Helicobacter*. 14: 223-300.
- Du, H., M. Pang., Y. Dong., Y. Wu., N. Wang., J. Liu., F. Awan., C. Lu and Y. Liu. 2016. Identification and Characterization of an *Aeromonas hydrophila* Oligopeptidase Gene *pepF* Negatively Related to Biofilm Formation. *Frontiers in Microbiology*. 7: 1467.
- Fadel, H. M and M. M. M. El-Lamie. 2019. Vibriosis and *Aeromonas* infection in shrimp: Isolation, sequencing, and control. *International Journal of One Health*. 5: 38–48.
- Fernández-Bravo, A and M. J. Figueras. 2020. An Update on the Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Epidemiology, and Pathogenicity. *Microorganisms*. 8(1): 129.
- Forn-Cuní, G., K. M. Fulton., J. C. Smith., S. M. Twine., E. Mendoza-Barberà., J. M. Tomás and S. Merino. 2021. Polar Flagella Glycosylation in *Aeromonas*: Genomic Characterization and Involvement of a Specific Glycosyltransferase (Fgi-1) in Heterogeneous Flagella Glycosylation. *Frontiers in Microbiology*. 11: 595697.
- Freestone, P. P. E., M. Lyte., R. D. Haigh and P. H. Williams. 1999. Stimulation of bacterial growth by heat-stable norepinephrine-induced autoinducers. *FEMS Micro. Letts*. 172(1): 53-60.
- Freestone, P. P. E., R. D. Haigh and M. Lyte. 2007. Blockade of catecholamine-induced growth by adrenergic and dopaminergic receptor antagonists in *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* and *Yersinia enterocolitica*. *BMC Microbiol*. 7: 8.
- Freestone, P. 2013. Communication between bacteria and their hosts. *Scientifica*. 2013: 1–15.
- Frey, J and F. C. Origgi. 2016. Type III Secretion System of *Aeromonas salmonicida* Undermining the Host's Immune Response. *Frontiers in Marine Science*. 3: 130.
- Ganesan, M., R. Mani and S. Sai. 2023. Isolation and Identification of *Aeromonas sp. from Fishes*. 3-10.
- Gao, J., B. Xi., K. Chen., R. Song., T. Qin, J. Xie and L. Pan. 2019. The stress hormone norepinephrine increases the growth and virulence of *Aeromonas hydrophila*. *MicrobiologyOpen*. 8(4): e00664.
- Green, B. T., M. Lyte., C. Chen., Y. Xie., M. A. Casey and A. Kulkarni-Narla. 2004. Adrenergic modulation of *Escherichia coli* O157:H7 adherence to the colonic mucosa, *Am. J. Phys. – Gastrointest. Liver Physiol*. 287: 1238-1246.
- Huang, L., Y. Qin, Q. Yan, G. Lin, L. Huang, B. Huang. 2015. Mind plays an important role in *Aeromonas hydrophila* adherence to *Anguilla japonica* mucus. *Gene*, 565: 275–281.
- Ibrahim, S., N. Al-Saryi., I. M. S. Al-Kadmy and S. N. Aziz. 2021. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* as an emerging concern in hospitals. *Mol Biol Rep*. 48(10): 6987–6998.
- Jentsch, H. F. R., D. Marz and M. Kruger. 2013. The effects of stress hormones on growth of selected periodontitis related bacteria. *Anaerobe*. 24(12): 49–54.
- Josenhans, C., J. Müthing., L. Elling., S. Bartfeld and H. Schmidt. 2020. How bacterial pathogens of the gastrointestinal tract use the mucosal glyco-code to harness mucus and microbiota: New ways to study an ancient bag of tricks. *International Journal of Medical Microbiology*. 310(2): 151392.
- Kartikaningsih, H., F. Z. Yahya., Rohman and A. A. Jaziri. 2020. Characteristics of *Aeromonas hydrophila*-infected Catfish (*Clarias sp.*). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 493(1): 012036.

- Khajanchi, B. K., E. V. Kozlova., J. Sha., V. L. Popov., A. K. Chopra. 2012. The two-component QseBC signalling system regulates *in vitro* and *in vivo* virulence of *Aeromonas hydrophila*. *Microbiology*. 158(1): 259–271.
- Kinney, K. S., C. E. Austin., D. S. Morton and G. Sonnenfeld. 1999. Catecholamine enhancement of *Aeromonas hydrophila* growth. *Micro. Pathogen*. 26(2): 85-91.
- Kirov, S. M., T. C. Barnett., C. M. Pepe., M. S. Strom and J. Albert. 2000. Investigation of the role of type IV *Aeromonas pilus* (Tap) in the pathogenesis of *Aeromonas* gastrointestinal infection. *Infect. Immun*. 68(7): 4040–4048.
- Kozlova, E. V., B. K. Khajanchi., V. L. Popov., J. Wen and A. K. Chopra. 2012. Impact of QseBC systeminc-di-GMP-dependent quorum sensing regulatory network in a clinical isolate SSU of *Aeromonas hydrophila*. *Microb.Pathog*. 53(3-4): 115–124.
- Lacoste, A., F. Jalabert., S. K. Malham., A. Cueff and S. A. Poulet. 2001. Stress and stress-induced neuroendocrine changes increase the susceptibility of juvenile oysters (*Crassostrea gigas*) to *Vibrio splendidus*. *Appl. Environ. Micro*. 67(5): 2304-2309.
- Lau, T. T. V., S. M. Puah., J. A. M. A. Tan., S. S. D. Merino., S. D Puthucheary and K. H. Chua. 2023. Flagellar motility mediates biofilm formation in *Aeromonas dhakensis*. *Microbial Pathogenesis*. 177: 106059.
- Li, M., D. Li., F. Li., W. Liu., S. Wang., G. Wu., G. Wu., G. Tan., Z. Zheng., L. Li., Z. Pan and Y. Liu. 2023. Hemolysin from *Aeromonas hydrophila* enhances the host's serum enzyme activity and regulates transcriptional responses in the spleen of *Cyprinus rubrofuscus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 263: 115375.
- Liu, Y., Y. Wang., M. Zhou., L. Zhang., Y. Pang., C. Wang., Q. Xiao and L. Liu. 2020. Metabolism and secretion mechanism of catecholamine syndrome and related treatment strategies. *Journal of Xiangya Medicine*. 5: 39.
- Mahmoud, R. Y., D. H. Stones., W. Li., M. Emar., R. A. El-domany., D. Wang., Y. Wang., A. M. Krachler and J. Yu. 2016. The Multivalent Adhesion Molecule SSO1327 plays a key role in *Shigella sonnei* pathogenesis. *Molecular Microbiology*. 99(4): 658-673.
- Merino, S and J. M. Tomas. 2016. The FlgT Protein Is Involved in *Aeromonas hydrophila* Polar Flagella Stability and Not Affects Anchorage of Lateral Flagella. *Front. Microbiol*. 7: 1150.
- Mendoza-Barberá, E., S. Merino and J. Tomás. 2021. Surface Glucan Structures in *Aeromonas* spp. *Marine Drugs*. 19(11): 649.
- Modell, H., W. Cliff., J. Michael., J. McFarland., M. P. Wenderoth and A. Wright. 2015. A physiologist's view of homeostasis. *Advances in Physiology Education*. 39(4): 259–266.
- Mohamed, E. M. M., H. A. Ahmed., M. M. Rezk, R. M. A. Gharieb and S. A. Abdel-Maksoud. 2019. *Aeromonas hydrophila* from Fish and Humans: Biofilm Formation and Genetic Relatedness. *Zagazig Veterinary Journal*. 47(4): 340–351.
- Moliner, P., C. Enjuanes., M. Tajés., M. Cainzos-Achirica., J. Lupón., A. Garay., S. Jimenez-Marrero., S. Yun., N. Farré., M. Cladellas., C. Díez., J. Gonzalez-Costello and J. Comin-Colet. 2019. Association Between Norepinephrine Levels and Abnormal Iron Status in Patients with Chronic Heart Failure: Is Iron Deficiency More Than a

- Comorbidity?. *Journal of the American Heart Association*. 8(4): e010887.
- Moraes, R. M., M. T. Garcia., F. Stossi., P. P. de Barros., J. C. Junqueira and A. L. Anbinder. 2022. Effects of α and β -adrenergic signaling on innate immunity and *Porphyromonas gingivalis* virulence in an invertebrate model. *Virulence*. 13(1): 1614–1630.
- O'Donnell, P. M., H. Aviles., M. Lyte and G. Sonnenfeld. 2006. Enhancement of in vitro growth of pathogenic bacteria by norepinephrine: importance of inoculum density and role of transferrin. *Appl. Environ. Micro*. 72: 5097-5099.
- Pande, G. S. J., N. T. Suong., P. Bossier and T. Defoirdt. 2014. The catecholamine stress hormones norepinephrine and dopamine increase the virulence of pathogenic *Vibrio anguillarum* and *Vibrio campbellii*. *FEMS Microbiology Ecology*. 90(3): 761–769.
- Pandey, A., M. Naik and S. K. Dubey. 2010. Hemolysin, Protease, and EPS Producing Pathogenic *Aeromonas hydrophila* Strain An4 Shows Antibacterial Activity against Marine Bacterial Fish Pathogens. *Journal of Marine Biology*. 1–9.
- Pessoa, R. B. G., D. S. C. Marques., R. O. H. A. Lima., M. B. M. Oliveira., G. M. S. Lima., E. V. M. Maciel de Carvalho and L. C. B. B. Coelho. 2020. Molecular characterization and evaluation of virulence traits of *Aeromonas* spp. isolated from the tambaqui fish (*Colossoma macropomum*). *Microbial Pathogenesis*. 147: 104273.
- Qin, Y., G. Lin., W. Chen., X. Xu and Q. Yan. 2016. Flagellar motility is necessary for *Aeromonas hydrophila* adhesion. *Microbial Pathogenesis*. 98: 160-166.
- Qin, T., K. Chen., B. Xi., L. Pan and J. Xie. 2023. QseBC regulates in vitro and in vivo virulence of *Aeromonas hydrophila* in response to norepinephrine. *Microbial Pathogenesis*. 174: 105914.
- Qin, Y. X., Q. P. Yan., X. X. Mao., Z. Chen and Y. Q. Su. 2014. Role of MshQ in MSHA pili biosynthesis and biofilm formation of *Aeromonas hydrophila*. *Genetics and Molecular Research*. 13(4): 8982–8996.
- Rasmussen-Ivey, C. R., M. J. Figueras., D. McGarey and M. R. Liles. 2016. Virulence Factors of *Aeromonas hydrophila*: In the Wake of Reclassification. *Frontiers in Microbiology*. 7.
- Roberts, A., J. B. Matthews., S. S. Socransky., P. P. E. Freestone., P. H. Williams and I. L. C. Chapple. 2002. Stress and periodontal diseases: effects of catecholamines on the growth of periodontal bacteria in vivo. *Oral Microbiol. Immunol*. 17: 296–303.
- Sandrini, S. F., P. P. Alghofaili., P. P. E. Freestone, H. Yesilkaya. 2014. Host stress hormone norepinephrine stimulates pneumococcal growth, biofilm formation and virulence gene expression. *BMC Microbiol*. 14: 180.
- Sarkodie, E. K., S. Zhou., S. A. Baidoo and W. Chu. 2019. Influences of stress hormones on microbial infections. *Microbial Pathogenesis*. 131: 270–276.
- Selvia, S. D and A. Pangestuti. 2013. Infection prevention of *Aeromonas hydrophila* bacteria in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by providing ethyl extract of temu ireng (*Curcuma aeruginosa*) rhizome. *Biofarmasi*. 11 (2): 31-35.
- Semwal, A., A. Kumar and N. Kumar. 2023a. A review on pathogenicity of *Aeromonas hydrophila* and their mitigation through medicinal herbs in aquaculture. *Heliyon*. 9(3): e14088.
- Semwal, A., A. Kumar, and N. Kumar. .2023b. A review on pathogenicity of *Aeromonas hydrophila* and their mitigation through

- medicinal herbs in aquaculture. *Heliyon*. 9(3): e14088.
- Skrzynska, A. K., E. Maiorano., M. Bastaroli., F. Naderi., J. M. Míguez., G. Martínez-Rodríguez., J. M. Mancera and J. A. Martos-Sitcha. 2018. Impact of Air Exposure on Vasotocinergic and Isotocinergic Systems in Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*): New Insights on Fish Stress Response. *Frontiers in Physiology*. 9: 96.
- Stratev, D and O. A. Odeyemi. 2016. Antimicrobial resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from different food sources: A mini-review. *Journal of Infection and Public Health*. 9(5): 535–544.
- Sugiani, D., U. Purwaningsih dan A. M. Lusiastuti. 2018. Vaksin kering beku sel utuh bakteri *aeromonas hydrophila* untuk pencegahan penyakit motile aeromonads septicemia pada ikan lele, nila, dan gurami. *Jurnal Riset Akuakultur*. 13(2): 159-167.
- Talagrand-Reboul, E., E. Jumas-Bilak and B. Lamy. 2017. The Social Life of *Aeromonas* through Biofilm and Quorum Sensing Systems. *Front. Microbiol.* 8: 37.
- Takahashi, E., H. Ozaki., Y. Fujii., H. Kobayashi., H. Yamanaka., S. Arimoto., T. Negishi and K. Okamoto. 2014. Properties of Hemolysin and Protease Produced by *Aeromonas trota*. *PLoS ONE*. 9(3): e91149.
- Toscano, M. J., T. J. Stabel., S. M. Bearson., B. L. Bearson and D. C. Lay. 2007. Cultivation of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in a norepinephrine containing medium alters in vivo tissue prevalence in swine. *J. Exp. Animal Sci.* 43: 329–338.
- Thabet, R., H. Ayadi., M. Koken and V. Leignel. 2017. Homeostatic responses of crustaceans to salinity changes. *Hydrobiologia*. 799(1): 1–20.
- Tomás, J. M. 2012. The Main *Aeromonas* Pathogenic Factors. *ISRN Microbiology*. 2012: 1–22.
- Torabi, D. S., S. Soltanian., H. Sharifiyazdi and P. Bossier. 2019. Effect of catecholamine stress hormones (dopamine and norepinephrine) on growth, swimming motility, biofilm formation and virulence factors of *Yersinia ruckeri* *in vitro* and an *in vivo* evaluation in rainbow trout. *Journal of Fish Diseases*. 42(4): 477–487.
- Verbrugge, E., F. Boyen., W. Gaastra., L. Bekhuis., B. Leyman and P. A. Van. 2012. The complex interplay between stress and bacterial infections in animals. *Veterinary Microbiology*. 55: 115–127.
- Wang, X., Q. Wang., M. Yang., J. Xiao., Q. Liu and H. Wu. 2011. QseBC controls flagellar motility, fimbrial hemagglutination and intracellular virulence in fish pathogen *Edwardsiella tarda*. *Fish and Shellfish Immunology*. 30: 944–953.
- Wang, S., Q. Yan., M. Zhang., L. Huang., L. Mao., M. Zhang., X. Xu., L. Chen and Y. Qin. 2019. The role and mechanism of *icmF* in *Aeromonas hydrophila* survival in fish macrophages. *Journal of Fish Diseases*. 42(6): 895–904.
- Williams, P. H., W. Rabsch., U. Methner., W. Voigt., H. Tschäpe and R. Reissbrodt. 2006. Catecholate receptor proteins in *Salmonella enterica*: role in virulence and implications for vaccine development. *Vaccine*. 24: 840-3844.