

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA UNIDAD
XOCHIMILCO DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y ANIMAL
LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Proyecto de Servicio Social

Identificación de los genes *ctxM*, *irt*, *oxy* y *sfo* en cepas de *E. coli* aisladas de animales del Zoológico de Zacango, Estado de México.

Prestador de Servicio Social:

Bonilla Bustillos Vanesa Itzel
Matrícula: 2203021598



Firma

Asesor Interno:

M. en C. Jonathan Josué López Islas
No. Económico
45435



Firma

Asesor externo:

M. en C. Wendy Esperanza Ortiz López
Cédula Profesional
14861935



Firma

Lugar de realización:

Laboratorio de Microbiología Agropecuaria, UAM Xochimilco.

Fecha de inicio y terminación:

Del 6 de diciembre del 2024 al 6 de junio del 2025

Identificación de los genes *ctxM*, *irt*, *oxy* y *sfo* en cepas de *E. coli* aisladas de animales del Zoológico de Zacango, Estado de México.

Justificación.

En los últimos años, la creciente disminución en la eficacia de los tratamientos con antibióticos convencionales, implica un problema de salud pública a nivel mundial. Esta problemática ha impulsado el desarrollo de nuevas generaciones de antibióticos; sin embargo, la velocidad con la que las bacterias adquieren mecanismos de resistencia, incluso frente a estos nuevos compuestos, resulta alarmante. Dentro de las bacterias de mayor interés para el estudio de la multirresistencia se encuentran *Escherichia coli*, debido a su capacidad de adquirir material genético, incluidos genes de resistencia a antibióticos. La fauna silvestre bajo cuidado humano, como la que se encuentra en centros de conservación, representa un punto crítico de atención debido a la estrecha interacción entre humanos y animales, lo que podría facilitar el intercambio y dispersión de cepas bacterianas con genes de resistencia. Por lo tanto, el estudio de los perfiles de multirresistencia a antibióticos en cepas de *E. coli* provenientes de fauna silvestre bajo cuidado humano permitirá establecer el papel que desempeñan ciertos entornos, como los centros de manejo de fauna silvestre, en la propagación de dicha resistencia.

Marco teórico

Resistencia antimicrobiana

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), *Escherichia coli* es una de las bacterias de mayor relevancia a nivel mundial, ya que es responsable de casos de infecciones intestinales y extraintestinales (Cho *et al.*, 2024; Islam *et al.*, 2023). Uno de los principales desafíos en la medicina actual es la aparición de cepas multirresistentes a antimicrobianos (Islam *et al.*, 2023; Vila *et al.*, 2016). En los últimos años, se ha documentado que *E. coli* es resistente a múltiples antibióticos (MDR), especialmente por su capacidad para producir β -lactamasas de espectro extendido (ESBL) (Cho *et al.*, 2024; Vila *et al.*, 2016). Un ejemplo destacado es la cepa *E. coli* ST131, que produce ESBL del grupo CTX-M-15, las cuales confieren resistencia a antibióticos como penicilinas, fluoroquinolonas y cefalosporinas de tercera generación, representando un riesgo sanitario significativo por su amplia distribución global (Cho *et al.*, 2024; Husna *et al.*, 2023; Islam *et al.*, 2023; Juraschek *et al.*, 2022; Castanheira *et al.*, 2021; Martischang *et al.*, 2021).

Los antibióticos β -lactámicos de amplio espectro, tales como penicilinas, monobactámicos, cefalosporinas y carbapenémicos, son fundamentales para el tratamiento de diversas infecciones bacterianas (Vila *et al.*, 2016). Sin embargo, su uso prolongado e inadecuado ha contribuido a la aparición de cepas multirresistentes, limitando las opciones terapéuticas disponibles (Brouwer *et al.*, 2024; Kayastha *et al.*, 2020; Sawa y Kooguchi, 2020). En particular, *E. coli* ha demostrado una notable capacidad para adquirir genes de resistencia a ESBL mediante mecanismos de transferencia horizontal de genes (HGT), lo que favorece la propagación de plásmidos o transposones portadores de estos genes (Lemlem *et al.*, 2024; Ramatla *et al.*, 2023; Vila *et al.*, 2016). Entre los mecanismos de resistencia más relevantes se encuentran las β -lactamasas de espectro extendido (ESBL), que se agrupan en doce familias principales: TEM, SHV, IRT, CMT, CTX-M, GES, PER, VEB, BEL, TLA, SFO y OXY (Lemlem *et al.*, 2024). En *Escherichia coli*, las familias TEM, SHV y CTX-M son las más importantes, destacando especialmente el gen bla_CTX-M-15, frecuentemente detectado (Castanheira *et al.*, 2021; Dikoumba *et al.*, 2024; Guérin *et al.*, 2022; Martischang *et al.*, 2021).

Transferencia horizontal de genes (HGT)

La transferencia horizontal de genes es el principal mecanismo que codifica para ESBL (Rodríguez *et al.*, 2020). Este proceso facilita el intercambio de material genético entre diferentes organismos, principalmente a través de elementos genéticos móviles (EGM) como plásmidos y bacteriófagos (Smith *et al.*, 2023; Tseng *et al.*, 2023; Vila *et al.*, 2016). Estos elementos pueden integrarse en el genoma bacteriano, favoreciendo la aparición de variantes genómicas (Smith *et al.*, 2023; Tseng *et al.*, 2023; Vila *et al.*, 2016)

La HGT ocurre por tres vías principales:

- **Conjugación:** transferencia directa de plásmidos entre bacterias (Smith *et al.*, 2023; Tao *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2022).
- **Transformación:** adquisición de ADN libre presente en el medio ambiente, proveniente de bacterias muertas (Smith *et al.*, 2023; Tao *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2022).
- **Transducción:** transferencia mediada por bacteriófagos durante su ciclo de infección (Smith *et al.*, 2023; Tao *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2022).

Marco referencial

Panorama general de *E. coli* como modelo epidemiológico de resistencia bacteriana

Actualmente *E. coli* es uno de los microorganismos más investigados bajo el enfoque Una Salud (One Health) (Nnah *et al.*, 2025; Zhang *et al.*, 2025). La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha clasificado a *E. coli* como uno de los principales patógenos bacterianos de prioridad crítica, reconociendo su capacidad para causar infecciones, cuya gravedad se intensifica por la rápida diseminación de mecanismos de resistencia y en algunos casos causando letalidad (Puvača y de Llanos, 2021).

Desde 2017 la OMS clasificó a *E. coli* como patógeno crítico, debido a que en los últimos 10 años ha aumentado el número de cepas resistentes a antibióticos, además de presentar una tasa de letalidad media del 11-30%, una incidencia global alta >10,000 casos por un millón de habitantes, siendo difícil la prevención y tratamientos de las infecciones por *E. coli* (OMS, 2024).

El primer reporte de resistencia a la penicilina en cepas de *E. coli* data de la década de los 40's, apenas unos años después de la introducción clínica del antibiótico (Torres *et al.*, 2018). Décadas más tarde, en 1964, se documentaron las primeras β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) a penicilinas y cefalosporinas, demostrando la capacidad de *E. coli* para desarrollar mecanismos de resistencia en un plazo corto de tiempo (Puvača y de Llanos, 2021; Torres *et al.*, 2018). De igual manera en 1950 mostró resistencia a otros grupos de antibióticos como son las sulfonamidas, tetraciclinas y aminoglucósidos (Puvača y de Llanos, 2021). En la década de los 2000's se han incrementado los casos de cepas resistentes a cefalosporinas de tercera generación (Torres *et al.*, 2018).

Patogénesis de *E. Coli*

Aunque la mayoría de las cepas de *E. coli* son comensales, algunas cepas pueden adquirir factores de virulencia lo que les confiere la capacidad de ser patógenas (Naidoo y Zishiri, 2025; Gambino *et al.*, 2023). Estas pueden ser dividirse en cepas patógenas extraintestinales e intestinales (Naidoo y Zishiri, 2025). Estas cepas de *E. coli* se clasifican en ocho patotipos principalmente, 6 patotipos intestinales y 2 patotipos extraintestinales. Los patotipos intestinales son: *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. Coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli*

enteroagregativa (EAEC), *E. coli* de adhesión difusa (DAEC) y *E. coli* enteroinvasiva (EIEC); y los patotipos extraintestinales son: *E. coli* uropatógena (UPEC), *E. coli* y meningitis neonatal (NMEC) (Naidoo y Zishiri, 2025; Croxen y Finlay, 2010).

El patotipo EPEC es el principal responsable de enfermedades diarreicas intestinales en lactantes, su patogénesis se basa en la adherencia y eliminación de las células epiteliales intestinales (A/E: attaching/effacing), para ello, la bacteria utiliza una fimbria formadora de paquetes (BFP) tipo IV, que utiliza para el desplazamiento y la auto agregación bacteriana y la formación de microcolonias sobre la superficie celular, un proceso facilitado por proteínas accesorias como DsbA que estabilizan la estructura del pili (Naidoo y Zishiri, 2025). Posteriormente la bacteria codifica el sistema de secreción tipo III (T3SS), que se encuentra dentro de la isla de patogenicidad conocida como locus de esfacelamiento del enterocito (LEE), que actúa como una jeringa molecular que inyecta diversas proteínas efectoras directamente en el citoplasma de la célula hospedera (Farfán *et al.*, 2016; Croxen y Finlay, 2010). Cada una de las proteínas cumplen con un rol, EspF, Map y EspG, contribuyen al daño celular mediante mecanismos diversos: EspF bloquea la síntesis de ARN ribosomal en el nucléolo, Map induce la formación transitoria de filopodios y EspG altera la red de microtúbulos del citoesqueleto, desestabilizando la arquitectura celular (Naidoo y Zishiri, 2025; Farfán *et al.*, 2016; Croxen y Finlay, 2010).

Simultáneamente la bacteria trasloca una proteína crucial denominada Tir (receptor de intimina translocado), esta proteína se inserta en la membrana del enterocito, quedando expuesta en la superficie celular y actuando como receptor de alta afinidad para la intimina, una adhesina presente en la membrana externa de la bacteria y codificada también por LEE (Naidoo y Zishiri, 2025; Croxen y Finlay, 2010). Esta unión desencadena una cascada de señalización intracelular que culmina con la polimerización de la actina y genera una reorganización masiva del citoesqueleto justo debajo de la bacteria adherida, formando una estructura prominente en forma de pedestal . Como resultado final, las microvellosidades intestinales, responsables de la absorción de nutrientes, son destruidas (borradas), y la célula hospedera sufre una transformación morfológica completa que impide su función absorptiva, formando así la lesión de adhesión y borrado, característica de la infección por EPEC (Naidoo y Zishiri, 2025; Croxen y Finlay, 2010).

EHEC esta asociado a diarreas sanguinolentas, colitis y síndrome hemolítico urémico (SHU) (Naidoo y Zishiri, 2025; Croxen y Finlay, 2010). Al igual que EPEC , se produce la adhesión del

patógeno a los enterocitos del intestino grueso por medio de el paquete formador de pili (BFP) en cepas relacionadas y utiliza el sistema de secreción tipo III (T3SS) para inyectar directamente efectores bacterianos en el citoplasma de la célula hospedadora y donde el receptor translocado de intimina (Tir), se inserta en la membrana del enterocito y actúa como receptor para la intimina bacteriana, estableciendo así una adhesión íntima y forma el pedestal, lo que contribuye a la malabsorción y la diarrea (Naidoo y Zishiri, 2025; Mengistu y Mengesha, 2023; Croxen y Finlay, 2010). Paralelamente, EHEC alberga profagos lisogénicos integrados en su cromosoma que codifican toxinas Shiga (Stx), las cuales son liberadas tras la lisis bacteriana y ejercen daño local y sistémico tras atravesar la barrera intestinal, viajan por el torrente sanguíneo y se unen a receptores específicos (globotriaosilceramida-3: Gb3) en el endotelio vascular, especialmente a nivel renal, donde inhiben la síntesis proteica de la unidad ribosomal 28S, induciendo apoptosis celular y desencadenando una cascada trombótica que conduce a la tríada característica del síndrome urémico hemolítico (SUH): insuficiencia renal aguda, trombocitopenia y anemia hemolítica microangiopática (Naidoo y Zishiri, 2025; Mengistu y Mengesha, 2023; 20. McNichol *et al.*, 2021; Croxen y Finlay, 2010).

EIEC causa diarreas acuosas principalmente (Naidoo y Zishiri, 2025; Croxen y Finlay, 2010). La patogénesis se caracteriza por su capacidad para invadir y replicarse dentro de las células del epitelio del intestino grueso, un mecanismo que la distingue radicalmente de otros patotipos intestinales que actúan de forma extracelular (Naidoo y Zishiri, 2025; Croxen y Finlay, 2010). EIEC carece de los factores de adherencia típicos como fimbrias o pili, y su virulencia reside en un conjunto de genes, a menudo ubicados en elementos genéticos móviles como plásmidos, que codifican factores necesarios para la invasión celular (Naidoo y Zishiri, 2025; Croxen y Finlay, 2010). El proceso se inicia cuando la bacteria, tras ser ingerida y sobrevivir al ambiente gástrico, alcanza el colon y es captada por las células M especializadas del tejido linfoide asociado al intestino, que la transportan desde el lumen hasta el espacio subepitelial. Desde allí, la EIEC utiliza sistemas de secreción Tipo III para inyectar efectores (IpaB, IpaC, IpaD) que inducen su propia internalización por los enterocitos, un proceso que desencadena rearrreglos del citoesqueleto de actina que envuelven a la bacteria y la introducen en una vacuola (Naidoo y Zishiri, 2025; Croxen y Finlay, 2010). Un paso crítico es la lisis inmediata de esta vacuola facilitada por la actividad formadora de poros de IpaB y IpaC, lo que libera a la bacteria al citoplasma del enterocito, un entorno rico en nutrientes donde puede multiplicarse rápidamente (Naidoo y Zishiri, 2025; Croxen y Finlay, 2010).

Tras la replicación, la EIEC utiliza la polimerización de actina del hospedero para propulsar y diseminarse directamente a las células epiteliales adyacentes, sin exponerse al medio extracelular ni a la respuesta inmune; este ciclo de invasión, replicación intracelular masiva y destrucción del epitelio causa la formación de úlceras y una intensa respuesta inflamatoria en la mucosa, con infiltración de leucocitos. La consecuencia clínica de este proceso es la disentería, caracterizada por diarrea con presencia de sangre, moco y leucocitos (pus), acompañada de fiebre y dolor abdominal intenso (tenesmo) (Naidoo y Zishiri, 2025; Croxen y Finlay, 2010).

EPEC de igual manera causa diarrea, sin embargo su mecanismo es diferente, se distingue por su capacidad para colonizar tanto el intestino delgado como el grueso, donde establece una biopelícula gruesa sobre la mucosa en un característico patrón de adherencia en "ladrillos apilados", un fenómeno mediado por fimbrias agregativas codificadas en plásmidos de virulencia que facilitan la adherencia entre sí y a la superficie de los enterocitos (Naidoo y Zishiri, 2025; Croxen y Finlay, 2010).

Este patotipo, no causa las lesiones de adherencia y efracción (A/E) típicas de EPEC o EHEC, sino que su mecanismo patogénico se fundamenta en tres etapas principales: adherencia agregativa mediada por fimbrias como las AAF (aggregative adherence fimbriae), que permiten la formación de microcolonias y una biopelícula multicapa sobre el epitelio; producción de toxinas y factores de secreción, entre los que destacan la toxina codificada en el plásmido Pet (plasmid-encoded toxin) y la toxina Shiga (en algunas cepas), así como un sistema de secreción tipo III (T3SS) que, aunque menos caracterizado que en otros patotipos, contribuye a la inyección de efectores que subvierten los procesos celulares; y desencadenamiento de una respuesta inflamatoria intensa caracterizada por la infiltración de leucocitos y la liberación de citoquinas proinflamatorias, como interleuquina-8 (IL-8), que reclutan neutrófilos a la mucosa (Naidoo y Zishiri, 2025; Croxen y Finlay, 2010). La consecuencia de este proceso es la destrucción de las microvellosidades, el aumento de la secreción de moco, la malabsorción y la aparición de una diarrea acuosa persistente o mucoide (Naidoo y Zishiri, 2025; Croxen y Finlay, 2010).

EPEC se caracteriza por su capacidad para colonizar el intestino delgado y producir potentes enterotoxinas que alteran el equilibrio hidroelectrolítico de los enterocitos (Naidoo y Zishiri, 2025; Croxen y Finlay, 2010). Su proceso patogénico empieza con la adherencia a la mucosa del intestino delgado mediante fimbrias o pili especializados, como las fimbrias CFA (colonization factor

antígenos) , que permiten a la bacteria anclarse firmemente al epitelio y resistir el peristaltismo, colonizando así extensas áreas de la superficie intestinal (Naidoo y Zishiri, 2025; Croxen y Finlay, 2010). Una vez adherida, la ETEC no invade las células ni causa daño estructural evidente como las lesiones de adherencia y efracción (A/E), sino que su virulencia depende casi exclusivamente de la producción y secreción de dos tipos de enterotoxinas: la toxina termolábil (LT) y la toxina termoestable (ST) (Naidoo y Zishiri, 2025; Croxen y Finlay, 2010). La toxina LT se une a receptores gangliósidos (GM1) en la membrana del enterocito, es internalizada y activa la subunidad Gs de la adenilato ciclase, lo que provoca un aumento intracelular de AMPc (adenosín monofosfato cíclico); este incremento abre los canales de cloro (CFTR) en la membrana apical, resultando en una masiva secreción de iones cloro y agua hacia la luz intestinal, a la vez que se inhibe la absorción de sodio (Naidoo y Zishiri, 2025; Croxen y Finlay, 2010).

Por su parte, la toxina ST se une al receptor guanilil ciclase C en la membrana apical del enterocito, activándolo y elevando los niveles intracelulares de GMPc (guanosín monofosfato cíclico), lo que también conduce a la apertura de los canales de cloro y a la secreción de líquidos, aunque por una vía de señalización diferente. La consecuencia neta de la acción combinada de LT y ST es una hipersecreción de agua y electrolitos que supera ampliamente la capacidad de absorción del intestino, generando la característica diarrea acuosa profusa (Naidoo y Zishiri, 2025; Croxen y Finlay, 2010).

DAEC se caracteriza por un patrón distintivo de adherencia que cubre de manera uniforme toda la superficie de los enterocitos del intestino delgado, sin formar microcolonias agregativas (como EAEC) ni lesiones de adherencia (como EPEC), esta mediado por adhesinas fimbriales pertenecientes a la familia Dr, que interactúan con proteínas del hospedero como el factor de aceleración del decaimiento del complemento (DAF o CD55) y las moléculas de adhesión celular (CEACAM) (Naidoo y Zishiri, 2025; Croxen y Finlay, 2010).

Inicia su proceso patogénico cuando las fimbrias Dr se unen al receptor DAF en la membrana apical de los enterocitos, una interacción que no solo sirve para el anclaje bacteriano, sino que desencadena una señalización intracelular compleja que induce la activación de tirosina quinasas y pequeñas GTPasas (como Rho), lo que provoca la polimerización de actina y la formación de prolongaciones largas y delgadas similares a microvellosidades que envuelven parcialmente a las bacterias; la interacción de DAEC con el epitelio induce la producción y secreción de citoquinas proinflamatorias, particularmente interleuquina-8 (IL-8), por parte de los enterocitos, lo que recluta

neutrófilos y otras células inflamatorias a la mucosa intestinal, generando una inflamación, provocando daño a las microvellosidades, la inflamación y la posible liberación de toxinas (aún no bien caracterizadas en este patotipo) alteran la función absortiva del intestino delgado, contribuyendo a la aparición de diarrea acuosas (Naidoo y Zishiri, 2025; Croxen y Finlay, 2010).

La UPEC asciende desde la uretra hasta la vejiga, donde debe superar el principal mecanismo de defensa del huésped: el flujo de la orina. Para ello, utiliza fimbrias o pili, siendo las fimbrias tipo 1 las más críticas en esta etapa (Naidoo y Zishiri, 2025; Whelan *et al.*, 2023; Croxen y Finlay, 2010). Estas estructuras adhesinas se unen específicamente a receptores de manosa (como la uroplaquina) presentes en la superficie de las células epiteliales que recubren la vejiga. Esta unión inicial es fundamental para evitar ser eliminado por la micción (Naidoo y Zishiri, 2025; Croxen y Finlay, 2010).

Una vez adherida, inicia la invasión celular y la formación de reservorios intracelulares (Naidoo y Zishiri, 2025; Whelan *et al.*, 2023; Croxen y Finlay, 2010). La unión de las fimbrias tipo 1 desencadena una serie de señales en la célula huésped que inducen su propia internalización mediante un proceso similar a la fagocitosis (Naidoo y Zishiri, 2025; Whelan *et al.*, 2023; Croxen y Finlay, 2010). Dentro de la célula epitelial, UPEC puede replicarse rápidamente formando comunidades bacterianas intracelulares (IBCs) , que son como pequeños biofilms que la protegen de los antibióticos y del sistema inmunitario (Naidoo y Zishiri, 2025; Whelan *et al.*, 2023; Croxen y Finlay, 2010).

UPEC produce toxinas como la α -hemolisina, que forma poros en la membrana de las células del urotelio y de los eritrocitos, causando daño celular, liberando nutrientes (como el hierro) y contribuyendo a la inflamación y al sangrado (hematuria) característico de las infecciones urinarias (Naidoo y Zishiri, 2025; Whelan *et al.*, 2023; Croxen y Finlay, 2010). Para crecer en el ambiente restringido de la orina, UPEC expresa sistemas de captación de hierro, como los sideróforos, que compiten con las proteínas del huésped por este metal esencial (Naidoo y Zishiri, 2025; Whelan *et al.*, 2023; Croxen y Finlay, 2010).

La NMEC tiene una patogenia que comienza típicamente con la colonización de las mucosas del tracto gastrointestinal o nasofaríngeo del recién nacido, desde donde accede al torrente sanguíneo provocando una bacteriemia de alto grado (Naidoo y Zishiri, 2025; Croxen y Finlay, 2010).

Para sobrevivir y multiplicarse en la sangre, NMEC emplea diversos factores de virulencia que le

permiten evadir la acción del sistema inmune del hospedador, destacando la cápsula polisacárida K1, que es su principal factor de virulencia por su capacidad para inhibir la fagocitosis y resistir la acción bactericida del suero al mimetizar estructuras del propio hospedador (Naidoo y Zishiri, 2025; Croxen y Finlay, 2010).

Una vez que se alcanza una bacteriemia suficientemente alta, NMEC debe atravesar la barrera hematoencefálica (BHE), lo logra mediante la interacción de proteínas de la membrana externa como OmpA e IbeA con receptores específicos en las células endoteliales de los capilares cerebrales, lo que desencadena su internalización (Naidoo y Zishiri, 2025; Croxen y Finlay, 2010). Una vez dentro del sistema nervioso central, NMEC se replica en el líquido cefalorraquídeo y desencadena una potente respuesta inflamatoria, caracterizada por la liberación de citoquinas y la infiltración de leucocitos, que contribuye significativamente al daño neuronal y a graves secuelas neurológicas o muerte asociadas a esta patología (Naidoo y Zishiri, 2025; Croxen y Finlay, 2010).

Estos mecanismos comprometen la eficacia de los tratamientos convencionales, tanto en medicina humana como veterinaria (Kerek *et al.*, 2025; Naidoo y Zishiri, 2025).

Esta crisis de resistencia antimicrobiana está impulsada, en gran medida, por el uso indebido de antibióticos, debido a que las bacterias muestran mecanismo en contra de los antibióticos, favoreciendo la supervivencia y propagación de poblaciones resistentes a distintos antibióticos. (Brouwer *et al.*, 2024; Jariremombe, 2023).

Resistencia a antibióticos en cepas de *E. coli* O157:H7

La resistencia en *E. coli* O157:H7 es un desafío complejo, ya que al ser una bacteria comensal, se disemina de manera fácil y sus mecanismos de resistencia abarcan desde la tolerancia a antibióticos clásicos hasta la adaptación a desinfectantes (Ramírez *et al.*, 2021; Gambushe *et al.*, 2022). Los estudios muestran que esta bacteria puede ser resistente a múltiples fármacos (Gambushe *et al.*, 2022). Un estudio en aislados de *E. coli* O157:H7 de Estados Unidos encontró que un 27% eran resistentes a tetraciclina, un 26% a sulfametoxazol y un 13% a ampicilina (Schroeder *et al.*, 2002). La base genética de esta resistencia es diversa, análisis en aislados de ganado y aguas residuales han detectado genes como tetA, tetB y tetC (para tetraciclina), strA y strB (para estreptomicina), y sull (para sulfonamidas) (Pazra *et al.*, 2023; Escalante *et al.*, 2022). *E. coli* O157:H7 presenta caracteres que la diferencian de otras cepas, se ha observado que puede

persistir activa en suelo y cuerpos de agua en un lapso de tiempo que ronda de los 365 a los 730 días, puede sobrevivir a un pH bajo 3.0, además de que su membrana presenta una permeabilidad reducida, seis veces menor que en una cepa no patogénica, lo que dificulta la entrada de antimicrobianos, esta característica se atribuye a cambios en las porinas, específicamente OmpF y OmpC (Gambushe *et al.*, 2022).

Otra característica que tiene esta cepa es su notable capacidad para adaptarse y sobrevivir a ambientes estresantes, como la exposición a concentraciones subletales y letales de desinfectantes, como el amonio cuaternario y clorhexidina, esto debido a mutaciones en genes clave como *marR* que normalmente regulan las bombas de expulsión de antibióticos y en *gyrA* y *gyrB* que esta relacionados con la resistencia a antibióticos del tipo quinolonas (Kirchner *et al.*, 2024).

Mecanismos de resistencia a antibióticos en *E.coli*

Los mecanismos de ganancia de genes de resistencia en *E. coli* son diversos e incluyen: la producción de enzimas inactivadoras de antibióticos (como las betalactamasas), la modificación de los sitios diana del antibiótico, la disminución de la permeabilidad de la membrana externa (pérdida de porinas) y la expulsión activa del fármaco mediante bombas de eflujo (Zhang *et al.*, 2025). De todos ellos, la adquisición de genes de betalactamasas mediante transferencia horizontal destaca por su impacto clínico directo y su rápida diseminación a nivel global. En las últimas décadas, se ha registrado un aumento en el número de cepas de *E. coli* portadoras de genes de resistencia a antibióticos. Esto se puede atribuir a la capacidad para adquirir genes de resistencia y ser donante de genes de resistencia. Por consiguiente, *E. coli* se le considera como un reservorio de material genético, en este caso, de genes asociados a la resistencia antimicrobiana (Poirel *et al.*, 2018).

Las Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) son las responsables principales de la resistencia a cefalosporinas de tercera y cuarta generación (Nnah *et al.*, 2025; Poirel *et al.*, 2018). Dentro de las BLEE, se ha observado que el gen *ctx-M* ha ido aumentando su presencia en distintas cepas multiresistentes, generando un recambio, esto debido a que las principales BLEE que se reportaban eran *tem* y *shv* en *E. coli* (Gambino *et al.*, 2023; Vila *et al.*, 2016). Se considera que el aumento en la presencia de *ctx-M* se debe a su localización dentro de elementos genéticos móviles como son los plásmidos, que a menudo transportan genes de resistencia a otras clases de antibióticos como aminoglucósidos y fluoroquinolonas, permitiendo moverse mediante la

conjugación en distintas cepas (Kerek *et al.*, 2025; Juraschek *et al.*, 2022; Vila *et al.*, 2016). El gen *bla*CTX-M-15 es, en particular, el más reportado y que le confiere su multirresistencia a cepas de *E. coli* y cuya prevalencia ha aumentado a nivel mundial (Kerek *et al.*, 2025; Martischang *et al.*, 2021; Vila *et al.*, 2016). Se ha vinculado a mecanismos de resistencia a antibióticos relativamente recientes como plazomicina, ceftazidima-avibactam, meropenem-vaborbactam y ceftolozano-tazobactam, esto debido a la hiperproducción de β -lactamasa como *ctxM* e *irt*, además de presentarse mutaciones en genes de proteínas de membrana externa como *ompC* (Zhang *et al.*, 2025).

Objetivo general

Identificar los genes *ctxM*, *irt*, *oxy* y *sfo* en cepas de *E. coli* aisladas de fauna silvestre bajo cuidado humano.

Objetivos específicos

- Establecer la presencia de los genes *ctxM*, *irt*, *oxy* y *sfo* en cepas de *E. coli* aisladas de fauna silvestre bajo cuidado humano.
- Evaluar en diferentes cepas de *E. coli* recuperadas de fauna silvestre bajo cuidado humano su capacidad de multirresistencia.

Metodología.

Sitios de trabajo: Laboratorio de Microbiología Agropecuaria de la Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco.

Aislamiento de cepas: Las heces recuperadas de distintos ejemplares de fauna silvestre se colocaron en tubos de vidrio de 10 ml con Caldo Infusión Cerebro Corazón y fueron cultivados a 37°C entre 18 y 20 horas. Posteriormente se tomaron 500 µl del cultivo, los cuales fueron resembrados en caldo Luria Bertani (LB) con una concentración de 100 µg/ml de Carbenicilina. Después se seleccionó aquellos medios con crecimiento, los cuales fueron plaqueados en agar LB. Se seleccionaron 10 colonias, de cada ejemplar, las cuales fueron resembradas en caldo LB con 100 µg/ml Clorhidrato Ceftiofur.

Extracción de ADN: Para la extracción de ADN, se realizó siguiendo el método Tiocianato de guanidina, con algunas modificaciones.

Amplificación por PCR: El ADN extraído fue utilizado para la amplificación mediante PCR de cuatro genes de resistencia a β-lactamasas (genes *ctxM*, *irt*, *oxy* y *sfo*)

Análisis estadísticos: Se elaboró una tabla de frecuencias para determinar la presencia de cada

gen de resistencia en las cepas analizadas. Además, se realizó un análisis de disimilitud con el objetivo de identificar y agrupar cepas que presenten patrones similares en la presencia de genes de resistencia.

Resultados

Se procesaron 38 muestras fecales provenientes de 38 ejemplares del Zoológico de Zacango, en el Estado de México. De cada muestra se aislaron 10 cepas de *Escherichia coli*, obteniendo un total de 380 aislamientos. De estas, 220 cepas mostraron crecimiento y resistencia tanto a carbenicilina (100 µg/ml) como a ceftiofur (100 µg/ml) (Tabla 1).

Las 220 cepas resistentes a ambos antibióticos fueron aisladas de diferentes especies, incluyendo: alpaca (*Vicugna pacos*), rinoceronte blanco (*Rhinoceros unicornis*), ciervo rojo (*Cervus elaphus*), dromedario (*Camelus dromedarius*), cebra de Grant (*Equus quagga boehmi*), caballo (*Equus ferus caballus*), llama (*Lama glama*), gamo (Dama dama), león africano (*Panthera leo*), antílope eland (*Taurotragus oryx*), borrego cimarrón (*Ovis canadensis*), jaguar (*Panthera onca*), capibara (*Hydrochoerus hydrochaeris*), pony (*Equus caballus*) y tigre blanco siberiano (*Panthera tigris*).

La identidad de todas las cepas fue confirmada mediante pruebas bioquímicas convencionales, incluyendo TSI (Triple Sugar Iron), indol, rojo de metilo, Voges-Proskauer y utilización de citrato.

Género	Especie	Nombre común	ID	Numero de cepas resistentes
<i>Cervus</i>	<i>elaphus</i>	Ciervo rojo	A	10
<i>Panthera</i>	<i>onca</i>	Jaguar	B	10
<i>Ovis</i>	<i>canadensis</i>	Borrego cimarrón	C	10
<i>Lama</i>	<i>glama</i>	Llama	D	10
<i>Hydrochoerus</i>	<i>hydrochaeris</i>	Capibara	E	10
<i>Panthera</i>	<i>leo</i>	León africano	F	10
<i>Taurotragus</i>	<i>oryx</i>	Antílope Eland	G	10
<i>Rhinoceros</i>	<i>unicornis</i>	Rinoceronte	H	10
<i>Dama</i>	<i>dama</i>	Gamo	I	10
<i>Vicugna</i>	<i>pacos</i>	Alpaca	J	10
<i>Equus</i>	<i>caballus</i>	Pony	K	10
<i>Ovis</i>	<i>canadensis</i>	Borrego cimarrón	L	10
<i>Giraffa</i>	<i>camelopardalis</i>	Jirafa	M	10

<i>Equus</i>	<i>quagga boehmi</i>	Cebra grant	N	10
<i>Equus</i>	<i>ferus caballus</i>	Caballo	O	10
<i>Cervus</i>	<i>elaphus</i>	Ciervo rojo	P	10
<i>Taurotragus</i>	<i>oryx</i>	Antilope Eland	Q	10
<i>Panthera</i>	<i>tigris</i>	Tigre blanco	R	10
<i>Panthera</i>	<i>leo</i>	León africano	S	10
<i>Camelus</i>	<i>dromedarius</i>	Dromedario	T	10
<i>Camelus</i>	<i>dromedarius</i>	Dromedario	U	10
<i>Equus</i>	<i>caballus</i>	Pony	V	10
Total				220

Tabla 1. Número de cepas de *E. coli* resistentes a carbenicilina (100 µg/ml) y ceftiofur (100 µg/ml), aisladas de muestras fecales de ejemplares del Zoológico de Zacango.

Se realizaron pools de ADN a partir de las 10 cepas aisladas por individuo, los cuales fueron sometidos a PCR punto final.

Los resultados de la amplificación de los cuatro genes de resistencia evaluados (*ctxM*, *irt*, *oxy* y *sfo*) mostraron que los pools correspondientes a los individuos C, L, U, I, F, S y D fueron positivos para los genes *ctxM* e *irt*. En contraste, ninguno de los pools presentó amplificación para los genes *oxy* ni *sfo* (Figura 1).

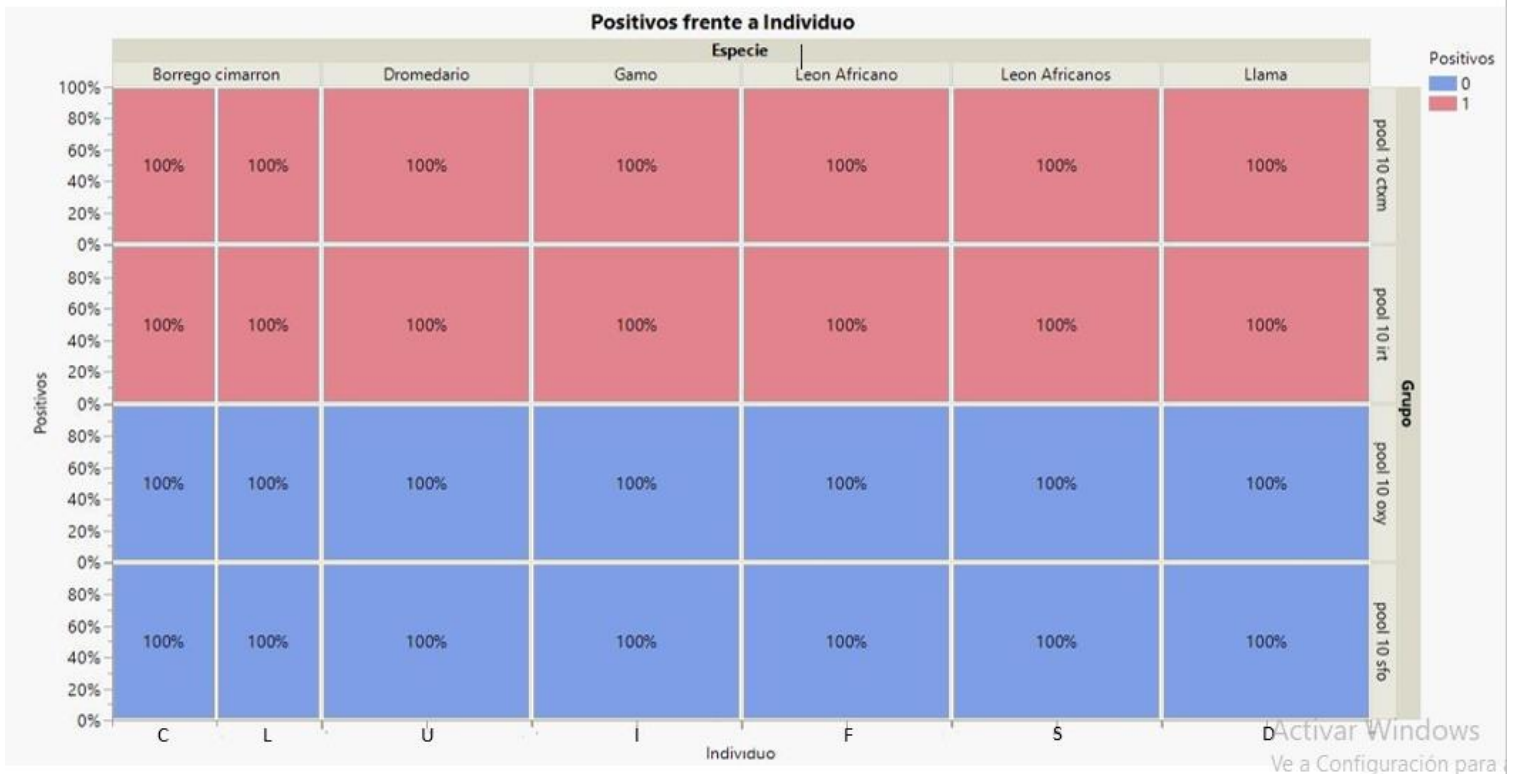


Figura 1. Frecuencia de amplificación de genes de resistencia en pools de 10 cepas de *E. coli* por especie. En todos los grupos (C, L, U, I, F, S, D) se detectó una amplificación del 100% para los genes *ctxM* e *irt*. Por el contrario, ninguno de los grupos amplificó los genes *oxy* y *sfo*, lo que corresponde a un 100% de ausencia de estos.

Posteriormente, se conformaron pools de cinco cepas por individuo (Gráfica 2). En estos pools, los análisis de PCR punto final mostraron que los individuos L, U, I, F y S presentaban ambos genes (*ctxM* e *irt*), mientras que en el individuo D únicamente uno de los pools amplificó el gen *ctxM*. En contraste, para el individuo C, uno de los dos pools amplificó el gen *irt*.

Posteriormente, cada cepa fue analizada de manera individual. En los ensayos de PCR individuales (Gráfica 3), las cepas del individuo C mostraron amplificación para *ctxM* en 5 de 10 aislamientos (50%) y para *irt* en el 100% de las cepas. Las cepas de los individuos L, U, I y F amplificaron ambos genes en el 100% de los aislamientos analizados.

Por su parte, las cepas del individuo S mostraron amplificación para *ctxM* en el 70% y para *irt* en el 100%, mientras que las cepas del individuo D amplificaron *ctxM* en el 100% de los aislamientos y *irt* en el 50%.



Gráfica 2. Frecuencia de amplificación de genes de resistencia *ctxM* e *irt* en pools de 5 cepas de *E. coli* por especie animal. Los grupos L, U, I, F, S presentaron los genes *ctxM* e *irt* en el 100% de las cepas. Sin embargo, en el grupo C solo el 50% amplificó *ctxM*, mientras que *irt* se detectó en todas. En el grupo D, solo el 50% amplificó *irt*, mientras que *ctxM* estuvo presente en todas las cepas.

Posteriormente, cada una de las cepas fue analizada de manera individual. En los ensayos de PCR individuales (Gráfica 3), las cepas de los individuos L, U e I mostraron amplificación para ambos genes (*ctxM* e *irt*) en el 100% de los aislamientos.

Por su parte, las cepas del individuo S presentaron amplificación para *ctxM* en el 70% de los aislamientos y para *irt* en el 100%, mientras que las cepas del individuo D amplificaron *ctxM* en el 100% y *irt* en el 50%. En el caso del individuo C, el 50% de las cepas amplificaron para *ctxM* y el 100% para *irt*. Finalmente, en el individuo F, el 60% de las cepas amplificaron el gen *ctxM*, mientras que el 100% fueron positivas para *irt*.

La comparación de las frecuencias de amplificación entre los genes *ctxM* e *irt* mostró diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.0001$) (Tabla 2). Se observó una mayor variabilidad en la detección de *ctxM* e *irt* en comparación con *oxy* y *sfo*, para los cuales no se registró amplificación en ningún aislamiento (frecuencia 0%).

Asimismo, las varianzas estimadas para *ctxM* e *irt* fueron mayores (572.000 y 614.000, respectivamente) en comparación con *oxy* y *sfo* (224.000), lo que indica que la distribución de *ctxM* e *irt* no fue uniforme entre los pools de ADN de las cepas de *Escherichia coli* aisladas de los animales del Zoológico de Zacango (Tabla 2).



Gráfica 3. Frecuencia de amplificación de genes de resistencia *ctxM* e *irt* en cepas individuales de *E. coli* por especie animal. Los grupos L, U e I presentaron ambos genes en el 100% de las cepas. Para el gen *irt*, todos los grupos mostraron un 100% de presencia, a excepción del grupo D, donde solo se detectó en el 50% de las cepas. Para el gen *ctxM*, su frecuencia varió: se detectó en el 100% de las cepas en los grupos L, U, I y D, pero en proporciones menores en los grupos C (50%), F (60%) y S (70%).

Nivel	Conteo	Suma de las puntuaciones	Puntuación esperada	Media de las puntuaciones	Media de las (Media - Media0)/Std0
<i>oxy</i>	70	15680	29435	224	-8.189
<i>sfo</i>	70	15680	29435	224	-8.189
<i>ctxM</i>	70	40040	29435	572	6.313
<i>irt</i>	70	42980	29435	614	8.064
pool 5 <i>ctxM</i>	70	42980	29435	614	8.064
pool 5 <i>irt</i>	70	42980	29435	614	8.064
pool 5 <i>oxy</i>	70	15680	29435	224	-8.189
pool 5 <i>sfo</i>	70	15680	29435	224	-8.189
pool 10 <i>ctxM</i>	70	45080	29435	644	9.314
pool 10 <i>irt</i>	70	45080	29435	644	9.314
pool 10 <i>oxy</i>	70	15680	29435	224	-8.189
pool 10 <i>sfo</i>	70	15680	29435	224	-8.189
		Grados de libertad	>	Ji cuadrado	
Ji cuadrado		11		743.2322	<.0001

Tabla 2. Resultados del análisis de Kruskal-Wallis y Wilcoxon para la detección de genes de resistencia en pools de E. coli. El análisis estadístico mostró diferencias significativas en la frecuencia de detección de genes de resistencia entre los grupos analizados ($p < 0.0001$). Los genes *ctxM* e *irt* presentaron una prevalencia muy alta, con medias de 572.0 y 614.0 y valores estandarizados superiores a 6.313. En contraste, los genes *oxy* y *sfo* no se detectaron, con una media de 224.0 y un valor estandarizado de -8.19. Además, el uso de pools de 10 cepas incrementó la sensibilidad de detección para *ctxM* e *irt*, alcanzando una media de 644.0 y el valor estandarizado más alto de 9.314.

Se realizaron antibiogramas a los pools conformados por 10 cepas por individuo, con el objetivo de evaluar el perfil de resistencia de las cepas de *E. coli* que amplificaron al menos dos genes de resistencia.

Los resultados (Tabla 3) indicaron resistencia a antibióticos como ciprofloxacina y ofloxacina. Por otro lado, se observó sensibilidad frente a nitrofurantoína, amikacina y ceftazidima.

El análisis de los diámetros de los halos de inhibición (Tabla 3) mostró que todas las cepas fueron resistentes a cefuroxima y cefdinir. Sin embargo, se registraron perfiles variables para otros antimicrobianos: las cepas del individuo D fueron sensibles al ácido nalidíxico (14 mm) y a cefixima (14 mm), mientras que las cepas del individuo I mostraron sensibilidad a gentamicina (14 mm). Asimismo, todas las cepas presentaron alta sensibilidad a amikacina y nitrofurantoína, mientras que las cepas del individuo F fueron resistentes a ceftriaxona.

En general, las cepas de *E. coli* mostraron un patrón de sensibilidad variable dependiendo del individuo de origen; no obstante, todas fueron resistentes a cefdinir, cefuroxima y cefotaxima.

Individuo	Antibióticos (mm)													
	CR/XM	NF/NOR	AT	CX/CTX	FR/CRO	NA	FU/NI	GM	AK	CL	OF	CZ/CAZ	FX/FIX	CN/CD
C	0	0	0	0	9	0	17	0	22	0	0	19	0	0
U	0	0	0	12	11	0	19	0	19	0	0	18	0	0
D	0	9	21	8	12	14	19	0	24	0	21	16	14	0
S	0	9	16	0	8	0	17	0	25	14	0	15	0	0
L	0	0	18	0	8	0	17	0	23	0	0	18	0	0
F	0	0	0	0	0	0	19	0	24	0	0	0	0	0
I	0	10	9	0	8	0	18	9	24	12	7	0	0	0

Tabla 3. Diámetro del halo de inhibición (mm) de antibióticos frente a cepas de *E. coli* resistentes. Donde: 0 mm= Resistencia total, >0 mm = Sensibilidad variable. Todas las cepas fueron resistentes a la cefuroxima y cefdinir, y sensibles a amikacina y nitrofurantoína. Para los demás antibióticos, la sensibilidad fue variable y limitada a cepas específicas: sólo las cepas del individuo D fueron sensibles al ácido nalidíxico y a cefixima; solo las del individuo I lo fueron a la gentamicina; la ceftriaxona fue efectiva en todos excepto en F; y la ceftazidima en todos excepto en F e I. La sensibilidad al norfloxacino y al aztreonam se observó solo en los individuos D, S e I; a la cefotaxima solo en U y D; al ciprofloxacino solo en S e I; a la ofloxacino solo en D e I. Abreviaturas:AK-amikacina; AT-aztreonam; CL-ciprofloxacina; CN/CD- cefdinir; CR/XM-cefuroxima; CX/CTX-cefotaxima; CZ/CAZ-ceftazidima; FR/CRO-ceftriaxona; FU/NI-nitrofurantoína; FX/FIX-cefixima; GM-gentamicina; NA-ácido nalidíxico; NF/NOR-norfloxacino; OF-ofloxacina.

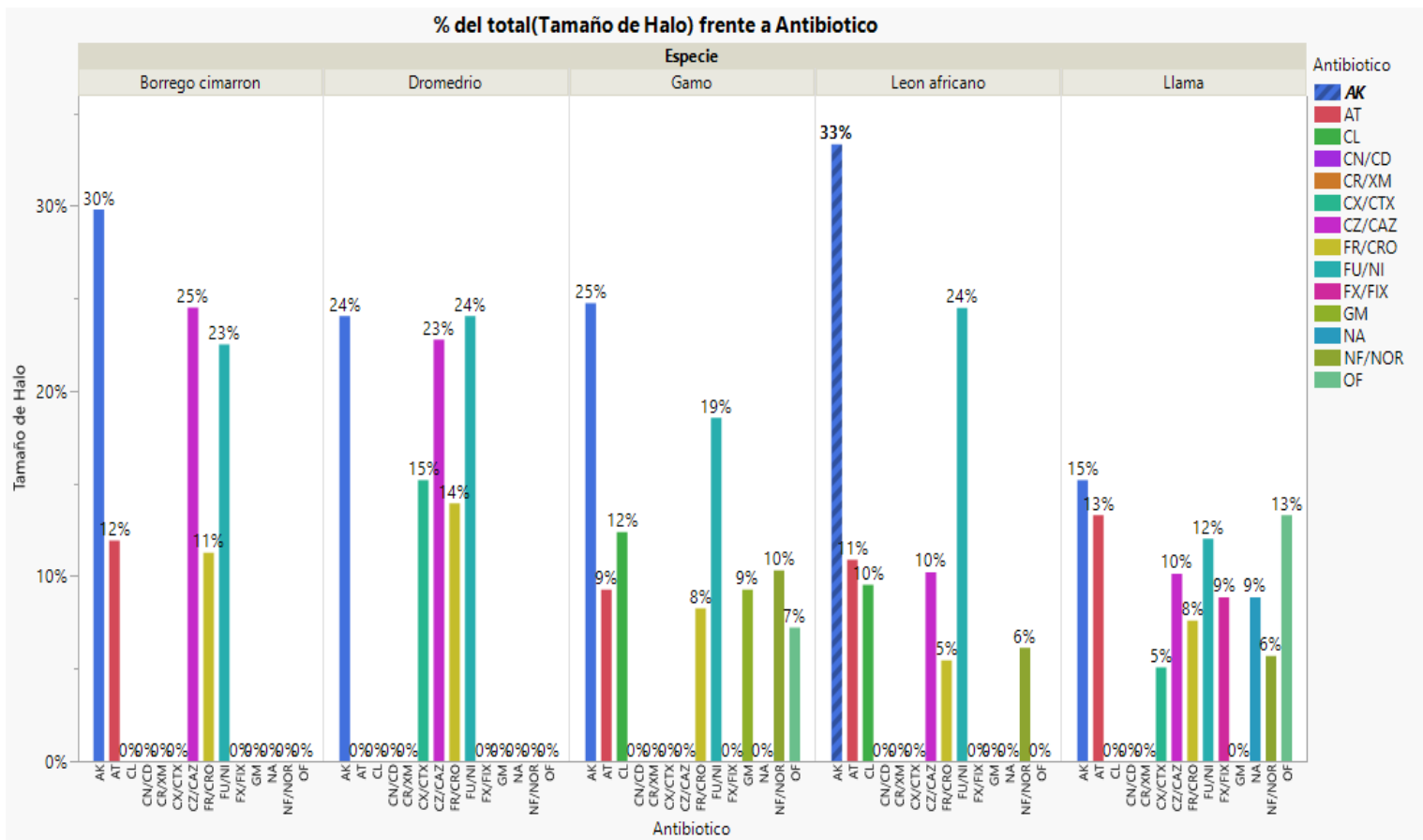
Finalmente, se evaluó la frecuencia de resistencia a antibióticos por cada pool de 10 cepas de *Escherichia coli*.

Los resultados indican que las cepas de los individuos C y L (borrego cimarrón) mostraron mayor sensibilidad a amikacina (30%), seguida de ceftazidima (25%) y nitrofurantoína (23%) (Gráfica 4). En contraste, presentaron baja sensibilidad a aztreonam (12%) y ceftriaxona (11%), y resistencia frente a ciprofloxacina, cefdinir, cefuroxima, cefotaxima, cefixima, gentamicina, ácido nalidíxico, norfloxacino y ofloxacina.

Las cepas del individuo U (dromedario) mostraron mayor sensibilidad a amikacina (24%) y nitrofurantoína (24%), seguidas de ceftazidima (23%). Por su parte, las cepas del individuo I presentaron mayor sensibilidad a amikacina (25%) y nitrofurantoína (19%). Las cepas de los individuos S y F mostraron la mayor sensibilidad a amikacina (33%) y nitrofurantoína (24%). En contraste, las cepas del individuo D (llama) exhibieron un patrón distinto, con mayor sensibilidad a amikacina (15%), aztreonam (13%) y ofloxacina (13%).

En términos generales, el análisis de los halos de inhibición evidenció diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.001$) en la eficacia de los antibióticos según la especie animal de origen de las cepas. Destacan diferencias en cefdinir y cefuroxima, donde se observó una variación significativa en la varianza del tamaño de los halos de inhibición ($p = 0.00984$) (Tabla 4).

Estos resultados sugieren que las cepas de *E. coli* aisladas de distintos individuos presentan diferencias notables en su perfil de resistencia y en su capacidad de supervivencia frente a diversos antibióticos, lo que podría reflejar variaciones en la presión de selección, la historia de exposición a antimicrobianos o la dinámica genética propia de cada hospedador.



Gráfica 4. Porcentaje del tamaño del halo de inhibición por antibiótico frente a cepas de E. coli aisladas de diferentes especies..La amikacina y la nitrofurantoína fueron los antibióticos más eficaces, mostrando la mayor sensibilidad (hasta un 33% en leones). Por el contrario, el cefdinir y la cefuroxima presentaron resistencia total (100%) en todos los individuos. La ciprofloxacina, cefotaxima, cefixima, gentamicina, ácido nalidixico, norfloxacino y ofloxacina también mostraron una alta resistencia en la mayoría de las cepas. El individuo D fue la excepción, ya que fue sensible a más antibióticos, aunque con halos de inhibición pequeños que indican una baja eficacia. Abreviaturas: AK-amikacina; AT-aztreonam; CL-ciprofloxacina; CN/CD- cefdinir; CR/XM-cefuroxima; CX/CTX-cefotaxima; CZ/CAZ-ceftazidima; FR/CRO-ceftriaxona; FU/NI-nitrofurantoína; FX/FIX-cefixima; GM-gentamicina; NA-ácido nalidixico; NF/NOR-norfloxacino; OF-ofloxacina.

Nivel	Desviación estándar	Varianza
AK	2.173551	4.72432
AT	9.265925	85.85736
CL	6.566127	43.11402
CN/CD	0.09918	0.00984
CR/XM	0.09918	0.00984
CX/CTX	5.023814	25.23871
CZ/CAZ	8.260798	68.24079
FR/CRO	3.665866	13.43857
FU/NI	1.17699	1.3853
FX/FIX	5.30167	28.10771
GM	3.408253	11.61619
NA	5.30167	28.10771
NF/NOR	5.168341	26.71175
OF	7.949112	63.18838

Grados de libertad	-2 residual	Log-verosimilitud	Ji cuadrado	Prob > Ji cuadrado
13	546.82396		132.44733	<.0001

Tabla 4. Análisis de homogeneidad de varianzas y desviación estándar del halo de inhibición según tipo de antibiótico en cepas de *E. coli*. El análisis estadístico mostró una variabilidad significativa en la efectividad de los antibióticos ($Ji^2 = 132.45$, $gl = 13$). El cefdinir y la cefuroxima presentaron una resistencia total y uniforme en todas las cepas (varianza mínima de 0.00984). En contraste, el aztreonam presentó la mayor variabilidad (varianza 85.86), seguido de la ceftazidima (68.24) y la ofloxacina (63.19), indicando que su eficacia depende de la cepa. Estos datos evidencian que la resistencia de *E. coli* es altamente variable entre antibióticos.

Discusión

En este estudio se observa que las cepas de *Escherichia coli* provenientes de un mismo individuo presentan perfiles similares respecto a la presencia de genes de resistencia, específicamente *ctxM* e *irt*. Este hallazgo sugiere que dichas cepas han estado expuestas a presiones de selección similares y/o a eventos de transferencia horizontal de genes (THG), o bien que podrían derivar de un proceso de expansión clonal dentro del hospedador (Klemm y Dougan, 2018).

Diversos autores han señalado que el genoma de *E. coli* alberga múltiples elementos genéticos móviles, como secuencias de inserción, transposones, plásmidos e integrones, los cuales facilitan la THG tanto entre cepas de la misma especie como entre diferentes especies bacterianas (Kerek *et al.*, 2025; Gambino *et al.*, 2023; Rana *et al.*, 2022; Poirel *et al.*, 2018). Estos elementos permiten la captura, movilización e integración de genes de resistencia, contribuyendo a la plasticidad genómica característica de esta especie (Gambino *et al.*, 2023; Vila *et al.*, 2016).

Una característica particularmente relevante de los plásmidos es la presencia de integrones, estructuras capaces de incorporar y acumular múltiples genes de resistencia en forma de casetes genéticos (Gambino *et al.*, 2023; Vila *et al.*, 2016). Este mecanismo ha favorecido que poblaciones de *E. coli* comensal adquieran tanto factores de virulencia como genes de resistencia, promoviendo su diseminación dentro de comunidades bacterianas intestinales (Nasrollahian *et al.*, 2024; Gambino *et al.*, 2023; Cui *et al.*, 2022).

Adicionalmente, no solo las cepas provenientes de un mismo individuo mostraron perfiles de resistencia similares, sino también aquellas aisladas de diferentes individuos pertenecientes a un mismo sitio, el Zoológico de Zacango. Este patrón sugiere que las cepas de *E. coli* aisladas dentro de una misma región geográfica pueden compartir mecanismos de resistencia frente a determinados antibióticos, aunque presenten variaciones en su nivel fenotípico de susceptibilidad (Kim *et al.*, 2024; Isler *et al.*, 2020; Argudín *et al.*, 2017).

El uso recurrente de antibióticos genera una presión selectiva que favorece el desarrollo y la propagación de resistencia en poblaciones bacterianas, incluyendo microorganismos comensales (Kim *et al.*, 2024; Bonten *et al.*, 2021). En este contexto, la producción de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) constituye uno de los principales mecanismos de resistencia en cepas de *E. coli*, siendo el tipo CTX-M el más frecuentemente reportado a nivel global (Kerek *et al.*, 2025; Rana *et*

al., 2024; Vila *et al.*, 2016).

La presencia de perfiles de resistencia similares podría relacionarse con el hecho de que los individuos analizados corresponden a fauna bajo cuidado humano, donde el uso terapéutico de antibióticos puede favorecer la adquisición, mantenimiento y diseminación de genes de resistencia. Asimismo, la coexistencia de múltiples especies dentro de una misma región podría facilitar eventos de THG entre cepas presentes en un entorno compartido, promoviendo la circulación local de determinantes genéticos de resistencia.

Para profundizar en las diferencias observadas en los genes de resistencia y ampliar la caracterización de los perfiles de β -lactamasas, el empleo de técnicas de secuenciación permitiría determinar si los genes presentes en las cepas aisladas de fauna bajo cuidado humano comparten un origen común y si han sido movilizados mediante THG. Este enfoque contribuiría a esclarecer el trasfondo genético y evolutivo asociado a la adquisición y dispersión de resistencia antimicrobiana en estos sistemas ecológicos.

Conclusión

El presente estudio permitió identificar y caracterizar cepas de *Escherichia coli* multirresistentes a antibióticos β -lactámicos aisladas de fauna silvestre bajo cuidado humano en el Zoológico de Zacango. Se confirmó la alta frecuencia de los genes de resistencia *ctxM* e *irt* (superior al 90% en pools de 10 cepas), mientras que los genes *oxy* y *sfo* estuvieron ausentes. Los antibiogramas mostraron resistencia uniforme a cefdinir y cefuroxima, alta variabilidad frente a aztreonam, y una mayor sensibilidad general a amikacina y nitrofurantoína, aunque con variaciones según la especie animal. La similitud en los perfiles de resistencia sugiere transferencia horizontal de genes y una presión selectiva común asociada al uso de antibióticos en el entorno de manejo. Estos hallazgos resaltan la importancia de vigilar estos entornos como potenciales reservorios de resistencia antimicrobiana, con implicaciones para la salud animal, pública y la conservación. Se recomienda implementar programas de vigilancia continua, optimizar el uso prudente de antibióticos en zoológicos y realizar estudios de secuenciación genómica.

Bibliografía.

1. Argudín, M. A., Deplano, A., Meghraoui, A., Dodémont, M., Heinrichs, A., Denis, O., Nonhoff, C., & Roisin, S. (2017). Bacteria from Animals as a Pool of Antimicrobial Resistance Genes. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), 6(2), 12. <https://doi.org/10.3390/antibiotics6020012>
2. Bonten, M., Johnson, J. R., van den Biggelaar, A. H. J., Georgalis, L., Geurtsen, J., de Palacios, P. I., Gravenstein, S., Verstraeten, T., Hermans, P., & Poolman, J. T. (2021). Epidemiology of Escherichia coli Bacteremia: A Systematic Literature Review. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 72(7), 1211–1219. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa210>
3. Brouwer, M. S. M., de Freitas Costa, E., Dame-Korevaar, A., Roberts, A. P., & Veldman, K. T. (2024). Extended spectrum cephalosporin (ESC) resistant Escherichia coli: Trends and seasonality in the Netherlands from 2014 to 2022. *Science in One Health*, 3, 100083. <https://doi.org/10.1016/j.soh.2024.100083>
4. C. Jariremombe, R. (2023). Mechanisms of Antimicrobial Resistance of E. coli. In *Escherichia coli - Old and New Insights*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.101671>
5. Castanheira, M., Simner, P. J., Bradford, P. A. (2021). Extended- spectrum β -lactamases: An update on their characteristics, epidemiology and detection. *JAC-Antimicrobial Resistance*, 3(3). <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlab092>
6. Cho, S.-T., Mills, E. G., Griffith, M. P., Nordstrom, H. R., McElheny, C. L., Harrison, L. H., Doi, Y.,; Van Tyne, D. (2024). Evolution of extended-spectrum β -lactamase-producing ST131Escherichia coli at a single hospital over 15 years. Cold Spring Harbor Laboratory. <https://doi.org/10.1101/2023.12.11.571174>
7. Croxen, M., Finlay, B. (2010). Molecular mechanisms of Escherichia coli pathogenicity. *Nat Rev Microbiol* 8, 26–38. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2265>
8. Cui, L., Zhao, X., Li, R., Han, Y., Hao, G., Wang, G. y Sun, S. (2022). Animales de compañía como posibles reservorios de Escherichia coli diarreogénica resistente a los antibióticos en Shandong, China. *Antibiotics* , 11 (6), 828. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11060828>
9. Dikoumba A.C., Mbehang Nguema PP, Oyaba Yinda LED, Lendamba RW, Obague Mbeang JC, Ndong Atome GR, Zinga Koumba CR, Godreuil S, Onanga R. Characterization of

Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Diarrhoeal Faeces from 0 to 5-Year-Old Children Attending Public Hospitals in Franceville, Gabon. *Antibiotics* (Basel). 2024 Nov 7;13(11):1059. doi: 10.3390/antibiotics13111059. PMID: 39596753; PMCID: PMC11591544.

10. Escalante E., Diana, Montalvo A., Katherine, Alvarez V., Luis, Surco L., Roger, Palomino-Farfán., Joel, Calle E., Sonia, & Siuce M., Juan. (2022). Detección de genes de resistencia antimicrobiana en aislados de *Escherichia coli* de cerdos de producción con cuadros diarreicos. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 33(5), e23795. Epub 27 de octubre de 2022. <https://doi.org/10.15381/rivep.v33i5.23795>

11. Farfán-García, A. E., Ariza-Rojas, S. C., Vargas-Cárdenas, F. A., & Vargas-Remolina, L. V. (2016). Mecanismos de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógena [Virulence mechanisms of enteropathogenic *Escherichia coli*]. *Revista chilena de infectología : organo oficial de la Sociedad Chilena de Infectología*, 33(4), 438–450. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182016000400009>

12. Gambino, D., Galluzzo, F. G., Cicero, L., Cirincione, R., Mannino, E., Fiore, V., Proverbio, D., Spada, E., Cassata, G., & Gargano, V. (2023). Antibiotic Resistance Genes Carried by Commensal *Escherichia coli* from Shelter Cats in Italy. *Veterinary sciences*, 10(12), 680. <https://doi.org/10.3390/vetsci10120680>

13. Gambushe, S. M., Zishiri, O. T., & El Zowalaty, M. E. (2022). Review of *Escherichia coli* O157:H7 Prevalence, Pathogenicity, Heavy Metal and Antimicrobial Resistance, African Perspective. *Infection and drug resistance*, 15, 4645–4673. <https://doi.org/10.2147/IDR.S365269>

14. Guérin, V., Farchi, A., Thiry, D., Cawez, F., Mercuri, P. S., Galleni, M., Mainil, J., & Saulmont, M. (2022). Seven-Year Evolution of β -Lactam Resistance Phenotypes in *Escherichia coli* Isolated from Young Diarrheic and Septicaemic Calves in Belgium. *Veterinary sciences*, 9(2), 45. <https://doi.org/10.3390/vetsci9020045>
<https://doi.org/10.1177/1178633720909798>

15. Husna, A., Rahman, M. M., Badruzzaman, A. T. M., Sikder, M. H., Islam, M. R., Rahman, M. T., Alam, J., & Ashour, H. M. (2023). Extended-Spectrum β -Lactamases (ESBL): Challenges and Opportunities. *Biomedicines*, 11(11), 2937. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11112937>

16. Islam, M. S., Rahman, A. M. M. T., Hassan, J., & Rahman, M. T. (2023). Extended-

spectrum beta-lactamase in *Escherichia coli* isolated from humans, animals, and environments in Bangladesh: A One Health perspective systematic review and meta-analysis. *One health* (Amsterdam, Netherlands), 16, 100526. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2023.100526>

17. Isler, M., Wissmann, R., Morach, M., Zurfluh, K., Stephan, R.,; Nüesch-Inderbinnen, M. (2020). Animal petting zoos as sources of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, *Salmonella* and extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Enterobacteriaceae*. *Zoonoses and Public Health*, 68(2), 79–87. <https://doi.org/10.1111/zph.12798>

18. Juraschek, K., Malekzadah, J., Malorny, B., Käsbohrer, A., Schwarz, S., Meemken, D.,; Hammerl, J. A. (2022). Characterization of *qnrB*-carrying plasmids from ESBL- and non-ESBL-producing *Escherichia coli*. *BMC Genomics*, 23(1). <https://doi.org/10.1186/s12864-022-08564-y>

19. Kayastha, K., Dhungel, B., Karki, S., Adhikari, B., Banjara, M. R., Rijal, K. R., & Ghimire, P. (2020). Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* Species in Pediatric Patients Visiting International Friendship Children's Hospital, Kathmandu, Nepal. *Infectious diseases*, 13, 1178633720909798.

20. Kerek, Á., Román, I., Szabó, Á., Kovács, D., Kardos, G., Kovács, L., & Jerzsele, Á. (2025). Antibiotic resistance genes in *Escherichia coli* – literature review. *Critical Reviews in Microbiology*, 1–35. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2025.2492156>

21. Kim, M., Kim, M., Yeo, Y. G., Lee, Y. T., & Han, J. I. (2024). Antimicrobial resistance of commensal *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis* isolated from clinically healthy captive wild animals in Seoul zoo. *Frontiers in veterinary science*, 10, 1283487. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1283487>

22. Kirchner, M., Nunez-Garcia, J., Duggett, N., Gosling, R. J., & Anjum, M. F. (2024). Use of transcriptomics and genomics to assess the effect of disinfectant exposure on the survival and resistance of *Escherichia coli* O157:H7, a human pathogen. *Frontiers in microbiology*, 15, 1477683. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1477683>

23. Klemm, E. J., Wong, V. K., & Dougan, G. (2018). Emergence of dominant multidrug-resistant bacterial clades: Lessons from history and whole-genome sequencing. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(51), 12872–12877. <https://doi.org/10.1073/pnas.1717162115>

24. Lemlem, M., Aklilu, E., Mohamed, M., Kamaruzzaman, N. F., Devan, S. S., Lawal,

H., & Kanamma, A. A. (2024). Prevalence and molecular characterization of ESBL-producing *Escherichia coli* isolated from broiler chicken and their respective farms environment in Malaysia. *BMC Microbiology*, 24(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-024-03653-2>

25. Liu, G., Thomsen, L. E., & Olsen, J. E. (2022). Antimicrobial-induced horizontal transfer of antimicrobial resistance genes in bacteria: a mini-review. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 77(3), 556–567. <https://doi.org/10.1093/jac/dkab450>

26. Martischang, R., François, P., Cherkaoui, A., Gaïa, N., Renzi, G., Agostinho, A., Perez, M., Graf, C. E.,; Harbarth, S. (2021). Epidemiology of ESBL-producing *Escherichia coli* from repeated prevalence studies over 11 years in a long-term-care facility. *Antimicrobial Resistance; Infection Control*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/s13756-021-01013-7>

27. McNichol, B. A., Bova, R. A., Torres, K., Preston, L. N.,; Melton-Celsa, A. R. (2021). Switching Shiga Toxin (Stx) Type from Stx2d to Stx2a but Not Stx2c Alters Virulence of Stx-Producing *Escherichia coli* (STEC) Strain B2F1 in Streptomycin (Str)- Treated Mice. *Toxins*, 13(1), 64. <https://doi.org/10.3390/toxins13010064>

28. Mengistu, D. Y., & Mengesha, Y. (2023). New approaches for severity intervention and rapid diagnosis of enterohemorrhagic *Escherichia coli*: a review. *All Life*, 16(1). <https://doi.org/10.1080/26895293.2023.2218582>

29. Naidoo, N., & Zishiri, O. T. (2025). Presence, Pathogenicity, Antibiotic Resistance, and Virulence Factors of *Escherichia coli*: A Review. *Bacteria*, 4(1), 16. <https://doi.org/10.3390/bacteria4010016>

30. Nasrollahian, S., Graham, J. P., & Halaji, M. (2024). A review of the mechanisms that confer antibiotic resistance in pathotypes of *E. coli*. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 14, 1387497. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1387497>

31. Nnah, E. P., Asante, J., Amoako, D. G., Abia, A. L. K., & Essack, S. Y. (2025). Antibiotic-resistant *Escherichia coli* (*E. coli*) at one health interfaces in Africa: A scoping review. *Science of The Total Environment*, 958, 177580. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.177580>

32. OMS, Sati, H., Carrara, E., Savoldi, A., Hansen, P., Garlasco, J., Campagnaro, E., Boccia, S., Castillo-Polo, J. A., Magrini, E., Garcia-Vello, P., Wool, E., Gigante, V., Duffy, E., Cassini, A., Huttner, B., Pardo, P. R., Naghavi, M., Mirzayev, F., Tacconelli, E. (2025). The WHO Bacterial Priority Pathogens List 2024: a prioritisation study to guide research, development, and public health strategies against antimicrobial resistance. *The Lancet*

Infectious Diseases, 25(9), 1033-1043. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(25\)00118-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(25)00118-5)

33. Pazra, D. F., Latif, H., Basri, C., Wibawan, I. W. T., & Rahayu, P. (2023). Detection of tetracycline resistance genes and their diversity in *Escherichia coli* isolated from pig farm waste in Banten province, Indonesia. *Veterinary world*, 16(9), 1907–1916. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2023.1907-1916>

34. Poirel L.Madec J.Lupo A.Schink A.Kieffer N.Nordmann P.Schwarz S. 2018. Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. *Microbiol Spectr* 6:10.1128/microbiolspec.arba-0026-2017. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.arba-0026-2017>

35. Puvača, N., & de Llanos Frutos, R. (2021). Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* Strains Isolated from Humans and Pet Animals. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 10(1), 69. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10010069>

36. Ramatla, T., Mafokwane, T., Lekota, K., Monyama, M., Khasapane, G., Serage, N., Nkhebenyane, J., Bezuidenhout, C.,; Thekiso, O. (2023). “One Health” perspective on prevalence of co-existing extended-spectrum β -lactamase (ESBL)- producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: A comprehensive systematic review and meta-analysis. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s12941-023-00638-3>

37. Ramírez-Forero, Gloria Smith, Valdivieso-Quintero, Wilfredo, Roperro-Vega, José Luis, Zafra, Germán, y Flórez-Castillo, Johanna Marcela. (2021). Cambios en el perfil proteico de *E. coli* O157:H7 frente al tratamiento con Ib-M1 e IONP@Ib-M1. *Revista Colombiana de Química* , 50 (1), 3-12. Publicación electrónica, 8 de abril de 2021. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v50n1.89105>

38. Rana, C., Rajput, S., Behera, M., Gautam, D., Vikas, V., Vats, A., Roshan, M., Ghorai, S. M., & De, S. (2022). Global epidemiology of CTX-M-type β -lactam resistance in human and animal. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 86, 101815. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2022.101815>

39. Rana, C., Vikas, V., Awasthi, S., Gautam, D., Vats, A., Rajput, S., Behera, M., Ludri, A., Berwal, A., Singh, D., & De, S. (2024). Antimicrobial resistance genes and associated mobile genetic elements in *Escherichia coli* from human, animal and environment. *Chemosphere*, 369, 143808. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.143808>

40. Rodríguez-Beltrán, J., Sørum, V., Toll-Riera, M., de la Vega, C., Peña-Miller, R., & San Millán, Á. (2020). Genetic dominance governs the evolution and spread of mobile

genetic elements in bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(27), 15755–15762. <https://doi.org/10.1073/pnas.2001240117>

41. Sawa, T., Kooguchi, K. & Moriyama, K. (2020). Molecular diversity of extended-spectrum β -lactamases and carbapenemases, and antimicrobial resistance. *J Intensive Care*, 8, 13 <https://doi.org/10.1186/s40560-020-0429-6>

42. Schroeder, C. M., Zhao, C., DebRoy, C., Torcolini, J., Zhao, S., White, D. G., Wagner, D. D., McDermott, P. F., Walker, R. D., & Meng, J. (2002). Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* O157 isolated from humans, cattle, swine, and food. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(2), 576–581. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.2.576-581.2002>

43. Smith, W. P. J., Wucher, B. R., Nadell, C. D., & Foster, K. R. (2023). Bacterial defences: mechanisms, evolution and antimicrobial resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 21(8), 519–534. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00877-3>

44. Tao, S., Chen, H., Li, N., Wang, T., & Liang, W. (2022). The Spread of Antibiotic Resistance Genes In Vivo Model. *The Canadian Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology = Journal canadien des maladies infectieuses et de la microbiologie medicale*, 2022, 3348695. <https://doi.org/10.1155/2022/3348695>

45. Torres-Caycedo, María Inés, Castro-Gutiérrez, Lisbeth Teresa, Prada-Quiroga, Carlos Fernando, & López-Velandia, Diana Paola. (2018). Resistencia a los antibióticos: orígenes, evolución e infecciones asociadas a la asistencia sanitaria. *Revista Salud Uninorte*, 34 (2), 494-505. <https://doi.org/10.14482/sun.34.2.615.32>

46. Tseng, C.-H., Liu, C.-W., & Liu, P.-Y. (2023). Extended-Spectrum β -Lactamases (ESBL) Producing Bacteria in Animals. *Antibiotics*, 12(4), 661. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12040661>

47. Vila, J., Sáez-López, E., Johnson, J. R., Römling, U., Dobrindt, U., Cantón, R., Giske, C. G., Naas, T., Carattoli, A., Martínez-Medina, M., Bosch, J., Retamar, P., Rodríguez-Baño, J., Baquero, F., & Soto, S. M. (2016). *Escherichia coli*: an old friend with new tidings. *FEMS Microbiology Reviews*, 40(4), 437–463. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuw005>

48. Whelan, S., Lucey, B., & Finn, K. (2023). Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC)-Associated Urinary Tract Infections: The Molecular Basis for Challenges to Effective Treatment. *Microorganisms*, 11(9), 2169. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11092169>.

49. Zhang, Z., Wei, M., Jia, B., & Yuan, Y. (2025). Recent Advances in Antimicrobial

Resistance: Insights from *Escherichia coli* as a Model Organism. *Microorganisms*, 13(1), 51.

<https://doi.org/10.3390/microorganisms13010051>