

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

Análisis de la resistencia antibiótica en *Escherichia coli* productoras de
betalactamasas de espectro extendido (ESBL) en muestras fecales de animales del
Zoológico de Zacango, Estado de México.

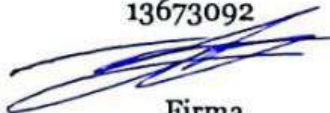
Prestador de Servicio Social:
Meléndez González Fernanda
Matrícula: 2183068379

Asesor Interno:
Dra. Estela T. Méndez Olvera
No. Económico

29747

Firma

Asesor Interno
M. en C. Jonathan Josué López Islas
Cédula Profesional

13673092

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

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

Título del proyecto.

Análisis de la resistencia antibiótica en *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (ESBL) en muestras fecales de animales del Zoológico de Zacango, Estado de México.

1) Lugar de realización

Laboratorio de Microbiología Agropecuaria, UAM Xochimilco.

2) Justificación.

La creciente prevalencia de bacterias multirresistentes a antibióticos, especialmente aquellas productoras de betalactamasa de espectro extendido (ESBL), representa un grave problema de salud pública y animal. *Escherichia coli*, una bacteria frecuentemente asociada a infecciones gastrointestinales y urinarias, ha adquirido resistencia a antibióticos clave, como las cefalosporinas de tercera generación, lo que complica su tratamiento y aumenta el riesgo de infecciones resistentes. La resistencia a los antibióticos se transmite principalmente a través de plásmidos que portan los genes de resistencia, lo que facilita su transferencia entre cepas bacterianas e incluso entre distintas especies.

Este fenómeno se ve acelerado por el uso excesivo e inapropiado de antibióticos en la medicina humana, veterinaria y en la producción agropecuaria, lo que favorece la expansión de cepas resistentes. Además, la presencia de *E. coli* resistente en reservorios animales y en el medio ambiente (por ejemplo, en productos alimenticios, aguas residuales y ganado) amplifica el riesgo de transmisión hacia la población humana. Esta propagación genera un ciclo continuo de resistencia, dificultando el control y erradicación de estas infecciones.

Un aspecto clave del problema es la transferencia horizontal de genes de resistencia entre bacterias, lo que permite la rápida diseminación de la resistencia antimicrobiana. En particular, enzimas como CTX-M, ampliamente distribuidas en la familia *Enterobacteriaceae*, han mostrado una alta prevalencia y se han asociado con patógenos de difícil tratamiento, como *E. coli* ST131, un clon multirresistente que genera infecciones extraintestinales graves.

La falta de estrategias eficaces para contener la diseminación de la resistencia bacteriana podría favorecer escenarios en los que infecciones previamente tratables se tornen de

difícil o imposible manejo clínico, con implicaciones importantes para la salud global. En este sentido, resulta necesario profundizar en el estudio de los mecanismos de resistencia y su diseminación, mediante la identificación fenotípica y molecular de bacterias productoras de ESBL, con el fin de generar información que apoye estrategias de vigilancia y control.

3) Marco teórico.

El aumento de bacterias multirresistentes a antibióticos en las últimas décadas ha generado una grave problemática de salud pública y veterinaria que se expande rápidamente en todo el mundo. Este fenómeno es de gran relevancia, ya que dificulta la erradicación de patógenos importantes (Argudín *et al.*, 2017). La multirresistencia se asocia con la adquisición de genes de resistencia que se integran en el genoma bacteriano, o se mantienen en elementos extracromosómicos, lo que confiere mayor flexibilidad genética. La mayoría de estas secuencias corresponden a elementos móviles del genoma, y su adquisición ocurre mediante mecanismos de transferencia horizontal de genes (THG), como la transformación, transducción y conjugación (Klemm *et al.*, 2018). Estos mecanismos son clave en la evolución bacteriana, ya que permiten una adquisición más rápida de fenotipos de resistencia y virulencia, en comparación con las mutaciones. Además, pueden promover la recombinación homóloga, generando diversas combinaciones alélicas (Smith *et al.*, 2023).

El uso excesivo de antibióticos es un factor determinante en el aumento de la resistencia, especialmente en bacterias productoras de betalactamasa de espectro extendido (ESBL). Las ESBL son enzimas capaces de hidrolizar antibióticos betalactámicos como penicilinas y cefalosporinas. Estas enzimas se encuentran principalmente en enterobacterias gramnegativas de la familia Enterobacteriaceae, entre las que destaca *Escherichia coli*. Esta bacteria tiene una gran relevancia en salud pública y animal debido a los diversos patotipos que causan infecciones. (Doi *et al.*, 2017).

Escherichia coli (*E. coli*) es una bacteria que se encuentra de manera habitual en ambientes acuáticos, suelos y en la microbiota intestinal de humanos y animales. Aunque muchas cepas de *E. coli* son comensales y no patógenas, algunas de ellas pueden convertirse en patógenos altamente peligrosos para la salud humana y animal. Estas cepas patógenas tienen la capacidad de colonizar el tracto gastrointestinal y diseminarse a otros órganos extraintestinales, donde pueden causar una variedad de enfermedades graves. Entre estas enfermedades se incluyen infecciones del tracto urinario, meningitis neonatal, diversas formas de diarrea, síndrome hemolítico urémico (SHU), septicemia en humanos, y colibacilosis aviar en animales (Esposito *et al.*, 2024; Lemlem *et al.*, 2024).

Diversos genes de resistencia a los antibióticos betalactámicos han sido identificados en aislamientos de *E. coli*, adquiridos mediante THG y atribuidos principalmente a la presencia de genes de betalactamasas AmpC. Estos genes están codificados en plásmidos, que son fragmentos de ADN extracromosómico que pueden replicarse de manera autónoma y transferirse a otras bacterias por mecanismos de transferencia horizontal. A diferencia de las betalactamasas de tipo ESBL, las AmpC suelen estar relacionadas con una resistencia primaria de la propia bacteria, que puede intensificarse por mutaciones que aumentan la expresión de estos genes. *E. coli* porta de manera natural un gen AmpC, y las mutaciones en su región promotora pueden dar lugar a una hiperexpresión de la betalactamasa, lo que resulta en una mayor resistencia a antibióticos betalactámicos (Brouwer *et al.*, 2024; Dikoumba *et al.*, 2024).

Las cepas de *E. coli* se vuelven resistentes a los betalactámicos cuando adquieren un gen de ESBL, de manera que puede actuar como receptor y donante de genes de resistencia tanto entre bacterias de la misma especie como entre especies diferentes (Poirel *et al.*, 2018). Las ESBL están codificadas principalmente por plásmidos, y las enzimas que codifican se clasifican en grupos como SHV, TEM, CTX-M, PER, GES, VER y OXA (Argudín *et al.*, 2017; Ayala *et al.*, 2018). Debido a esto, en las últimas décadas, uno de los grupos de *E. coli* que ha cobrado especial atención debido a su impacto en la salud pública es el de las cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido (ESBL-Ec). Las bacterias ESBL-Ec son de particular preocupación debido a su capacidad para resistir a múltiples clases de antibióticos de uso común, como las fluoroquinolonas de tercera y cuarta generación, cefalosporinas, carbapenémicos y las polimixinas (Juraschek *et al.*, 2022; Esposito *et al.*, 2024). La resistencia a estos antibióticos dificulta enormemente el tratamiento de infecciones causadas por estas cepas, lo que plantea un desafío creciente para los sistemas de salud a nivel mundial.

Además, se ha reportado que las ESBL-Ec no solo se encuentran en animales de producción, sino también en alimentos de origen animal, como carne de ternero y pollo, al igual que en aguas residuales, donde predominan las enzimas CTX-M, dando indicios de su amplia distribución y capacidad de diseminación (Bajaj *et al.*, 2016). El uso extensivo de antimicrobianos en la agricultura y la ganadería es uno de los principales factores que favorecen la propagación de estas cepas resistentes. La exposición constante a antimicrobianos en estos entornos permiten que las bacterias desarrollen y diseminen mecanismos de resistencia (Kuan *et al.*, 2024). Esto subraya la importancia de

implementar medidas estrictas en el control del uso de antibióticos en animales de producción para reducir el riesgo de transmisión de estas bacterias resistentes a los humanos (Bajaj *et al.*, 2016).

Un clon de particular importancia es *E. coli* ST131, un patotipo extraintestinal multirresistente que expresa ESBL, incluida la CTX-M-15, confiriendo resistencia a cefalosporinas de tercera generación. Este fenotipo lo hace particularmente difícil de erradicar (Klemm *et al.*, 2018). La variante CTX-M-15, es una de las más prevalentes a nivel mundial en *E. coli* productora de ESBL. Esta variante se asocia con plásmidos IncF, que son de particular preocupación debido a su capacidad para diseminarse rápidamente y propagar la resistencia a través de las poblaciones bacterianas. Recientemente, la expansión global de *E. coli* productora de CTX-M ha sido impulsada por el aumento de cepas de ST131, un clon multirresistente que causa infecciones extraintestinales (Del Carmen Rocha, *et al.*, 2022).

En cuanto al diagnóstico de *E. coli* productora de ESBL en muestras fecales, uno de los métodos más utilizados es la siembra en agar cromogénico o MacConkey suplementado con cefotaxima. Este método permite identificar la presencia de bacterias resistentes a cefalosporinas de tercera generación. Sin embargo, se han reportado algunas limitaciones en la precisión de los métodos actuales de diagnóstico molecular, como la tipificación de grupos patógenos mediante secuencias cortas por PCR. Estas técnicas aún no son completamente exactas para correlacionar la presencia de genes de resistencia con la multirresistencia de las cepas (Gallichan *et al.*, 2024). Es necesario seguir investigando y perfeccionando las herramientas diagnósticas para mejorar la detección temprana y el tratamiento adecuado de las infecciones causadas por *E. coli* resistente.

4) Objetivo general

- Identificar la presencia de cepas de *Escherichia coli* productoras de ESBL en muestras fecales obtenidas del Zoológico de Zacango, en el Estado de México.

5) Objetivos específicos

- 1.- Determinar la prevalencia de cepas de *E. coli* productoras de ESBL en las muestras fecales recolectadas del Zoológico de Zacango, Estado de México.

2.- Evaluar la resistencia de las cepas de *E. coli* productoras de ESBL a diferentes clases de antibióticos en función de las concentraciones utilizadas en las pruebas de susceptibilidad.

3.-Analizar, mediante pruebas estadísticas, la relación entre las concentraciones de antibióticos y los patrones de resistencia antimicrobiana de las cepas de *Escherichia coli* productoras de ESBL en muestras fecales del Zoológico de Zacango.

6) Metodología

Sitios de trabajo: Las muestras se recuperaron de fauna silvestre bajo cuidado humano del Zoológico de Zacango, fueron puestas en refrigeración y posteriormente fueron procesadas en el Laboratorio de Microbiología Agropecuaria de la Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco.

Cepas de *E. coli*: Las muestras fecales recuperadas de distintos ejemplares de fauna silvestre se colocaron en tubos de vidrio de 10 ml con Caldo infusión cerebro, para ser cultivadas a 37°C durante 24 horas. Posteriormente se tomaron 500 µl de inóculo previamente crecido y se inocularon en caldo Luria Bertani (LB) suplementado con 100 µg/ml de Carbenicilina durante 24 horas y se seleccionaron aquellos cultivos que mostraron crecimiento bacteriano. A partir de estos cultivos, se tomaron 20 µL para ser sembrados en placas con medio LB sólido e incubados a 37 °C durante 24 horas. Posteriormente se seleccionaron 10 colonias por cada individuo con crecimiento positivo, las cuales se evaluaron en medio LB suplementado con 100 µg/ml Cefotaxima. Las cepas que mostraron crecimiento fueron recuperadas para su posterior análisis.

Antibióticos y concentraciones. Para este análisis, se seleccionaron antibióticos representativos de diferentes clases terapéuticas, incluidos los betalactámicos (como cefotaxima, ceftriaxona y ceftazidima), las fluoroquinolonas (como ciprofloxacina), y los aminoglucósidos (como amikacina). Estos antibióticos son comunes en el tratamiento de infecciones en humanos y animales, y son frecuentemente utilizados en la práctica veterinaria.

Análisis de la relación entre concentraciones y patrones de resistencia. Se analizaron los datos obtenidos para evaluar la relación entre las concentraciones de los antibióticos y los patrones de resistencia de las cepas de *Escherichia coli* productoras de ESBL. Para ello, se evaluaron las variaciones en los diámetros de los halos de inhibición en función de las concentraciones de los antibióticos utilizados.

Análisis estadístico. Para evaluar la significancia de las relaciones entre las concentraciones de antibióticos y los patrones de resistencia, se emplearon métodos estadísticos como análisis de varianza (ANOVA) y modelos de regresión lineal o logística, según la naturaleza de los datos. Estos análisis permitieron identificar diferencias significativas en la respuesta de las cepas de *E. coli* productoras de ESBL a distintas concentraciones de antibióticos, así como a posibles patrones de resistencia. Asimismo, se realizó un análisis comparativo entre las concentraciones de antibióticos y la prevalencia de genes específicos de resistencia, con el fin de aportar información valiosa sobre los posibles mecanismos de resistencia involucrados.

7) Resultados

Se obtuvieron un total de 38 muestras fecales de diferentes individuos procedentes del Zoológico de Zacango, Edo de México (Tabla 1). De las 38 muestras analizadas, únicamente 21 mostraron crecimiento en medios selectivos para enterobacterias.

# MUESTRA	NOMBRE	ESPECIE	NOMBRE CIENTÍFICO	SEXO
1	Pata	Jirafa	<i>Giraffa camelopardalis</i>	Hembra
2	Maki	Cebra	<i>Equus zebra</i>	Hembra
3	KED	Antílope acuático	<i>Kobus ellipsiprymnus</i>	Hembra
4	Antílope Eland	Antílope Eland	<i>Tragelaphus oryx</i>	Se desconoce
5	Mamado Jr	Antílope	<i>Antílope cervicapra</i>	Macho
6	Capibara	Capibara	<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i>	Se desconoce
7	Borrego común	Borrego común	<i>Ovis canadensis</i>	Hembra
8	Blackbuck	Antílope	<i>Antílope cervicapra</i>	Sin sexo
9	Kinam	Jaguar	<i>Panthera onca</i>	Macho
10	Marceline	Tigre de bengala	<i>Panthera tigris tigris</i>	Hembra
11	Emiliano	León africano	<i>Panthera leo</i>	Macho
12	Bigotes, Princesa	Tigres	<i>Panthera tigris</i>	Macho y Hembra
13	Zapata	León africano	<i>Panthera leo</i>	Macho
14	Duquesa	Tigre blanco	<i>Panthera tigris</i>	Hembra
15	Cuyos	Cuyos	<i>Cavia porcellus</i>	Se desconoce
16	Borrego Kathadin	Borrego katahdin	<i>Ovis aries</i>	Macho
17	Cabra	Cabra	<i>Capra aegagrus hircus</i>	Se desconoce
18	Toulouse	Tigre blanco	<i>Panthera tigris</i>	Macho
19	Baco	Caballo	<i>Equus caballus</i>	Macho

20	Marian	Yegua	<i>Equus caballus</i>	Hembra
21	Spirit	Potrillo	<i>Equus caballus</i>	Macho
22	Pinto, Canelo	Ponies	<i>Equus ferus caballus</i>	Machos
23	Búfalo cafre	Búfalo cafre	<i>Syncerus caffer</i>	Se desconoce
24	Borrego muflón	Borrego muflón	<i>Ovis aries musimon</i>	Hembra
25	Rafael adulto	Dromedario	<i>Camelus dromedarius</i>	Macho
26	Camila adulto	Dromedario	<i>Camelus dromedarius</i>	Hembra
27	Capibara adulto	Capibara	<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i>	Se desconoce
28	Rinoceronte adulto	Rinoceronte	<i>Ceratotherium simum</i>	Hembra
29	Antílope eland	Antílope eland	<i>Tragelaphus oryx</i>	Hembra
30	Jirafa adulto	Jirafa	<i>Giraffa camelopardalis</i>	Hembra
31	Alpaca	Alpaca	<i>Vicugna pacos</i>	Macho
32	Borrego Aoudad	Borrego aoudad	<i>Ammotragus lervia</i>	Hembra
33	Ciervo Sika	Ciervo sika	<i>Cervus nippon</i>	Hembra
34	Borrego cimarrón	Borrego cimarrón	<i>Ovis canadensis</i>	Se desconoce
35	Llama	Llama	<i>Lama glama</i>	Hembra
36	Ciervo rojo	Ciervo rojo	<i>Cervus elaphus</i>	Hembra
37	Cebra grant adulto	Cebra grant	<i>Equus quagga boehmi</i>	Hembra
38	Gamo Fallow	Gamo común	<i>Dama dama</i>	Macho

TABLA 1. Individuos muestreados de la colección del Zoológico de Zacango.

En las 21 muestras que mostraron crecimiento se identificó la presencia de unidades formadoras de colonias (UFC) de *E. coli*. Las 21 muestras con crecimiento positivo fueron identificadas mediante un código alfabético (Tabla 2). De cada una de las 21 muestras se seleccionaron 10 colonias diferentes. Estas colonias mostraron capacidad de crecimiento en presencia de carbenicilina y ceftiofur, por lo que se obtuvieron 210 cepas provenientes de 21 individuos con resistencia a antibióticos.

CÓDIGO	NOMBRE	ESPECIE	NOMBRE CIENTÍFICO	SEXO
A	Ciervo Sika	Ciervo sika	<i>Cervus nippon</i>	Hembra
B	Kinam	Jaguar	<i>Panthera onca</i>	Macho
C	Borrego Katahdin	Borrego katahdin	<i>Ovis aries</i>	Macho

D	Llama	Llama	<i>Lama glama</i>	Hembra
E	Capibara adulto	Capibara	<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i>	Se desconoce
F	Emiliano	León africano	<i>Panthera leo</i>	Macho
G	Antílope eland	Antílope eland	<i>Tragelaphus oryx</i>	Hembra
H	Rinoceronte adulto	Rinoceronte	<i>Ceratotherium simum</i>	Hembra
I	Gamo Fallow	Gamo común	<i>Dama dama</i>	Macho
J	Alpaca	Alpaca	<i>Vicugna pacos</i>	Macho
K	Pinto, Canelo	Ponies	<i>Equus ferus caballus</i>	Machos
L	Borrego cimarrón	Borrego cimarrón	<i>Ovis canadensis</i>	Se desconoce
M	Jirafa adulto	Jirafa	<i>Giraffa camelopardalis</i>	Hembra
N	Cebra grant adulto	Cebra grant	<i>Equus quagga boehmi</i>	Hembra
O	Baco	Caballo	<i>Equus caballus</i>	Macho
P	Ciervo rojo	Ciervo rojo	<i>Cervus elaphus</i>	Hembra
Q	Mamado Jr	Antílope Eland	<i>Tragelaphus oryx</i>	Macho
R	Duquesa	Tigre blanco	<i>Panthera tigris</i>	Hembra
S	Zapata	León africano	<i>Panthera leo</i>	Macho
T	Rafael adulto	Dromedario	<i>Camelus dromedarius</i>	Macho
U	Camila adulto	Dromedario	<i>Camelus dromedarius</i>	Hembra

Tabla 2. Código alfabético de los 21 individuos donde se recuperaron 210 cepas de *E. coli*.

Las 210 cepas obtenidas fueron conservadas y almacenadas en congelación para su posterior análisis. Posteriormente se conformaron agrupaciones de 10 cepas por individuo para la extracción de ADN. Una vez obtenido el ADN de las agrupaciones correspondientes a 12 individuos, se realizó el PCR para la detección de los genes *shv*, *tem*, *tla*. Se seleccionaron aquellas cepas que presentaron al menos dos de los tres genes asociados a la producción de betalactamasas. Con el fin de depurar las muestras, se realizaron análisis adicionales mediante agrupaciones de 10 y posteriormente de 5 cepas, con la finalidad de descartar aquellas muestras e individuos que no mostraron multirresistencia.. Una vez realizado PCR a las agrupaciones de 10 y de 5 cepas, se seleccionaron un total de 70 cepas de *E. coli* provenientes de siete individuos que mostraron la presencia de al menos dos genes de resistencia.

Finalmente, tras descartar los individuos negativos a los genes evaluados, se realizó PCR individual de cepas seleccionadas de manera aleatoria, con el fin de identificar 10 cepas portadoras de ambos genes de resistencia.

Las 70 cepas crecieron en agrupaciones de 10 con respecto a los siete individuos; fueron sometidas a pruebas de susceptibilidad antimicrobiana mediante antibiograma, con el fin de confirmar su perfil de multirresistencia. (Tabla 3). En los casos en que se observó la presencia de halo de inhibición, indicativa de sensibilidad, se midió su diámetro y se registró en milímetros.

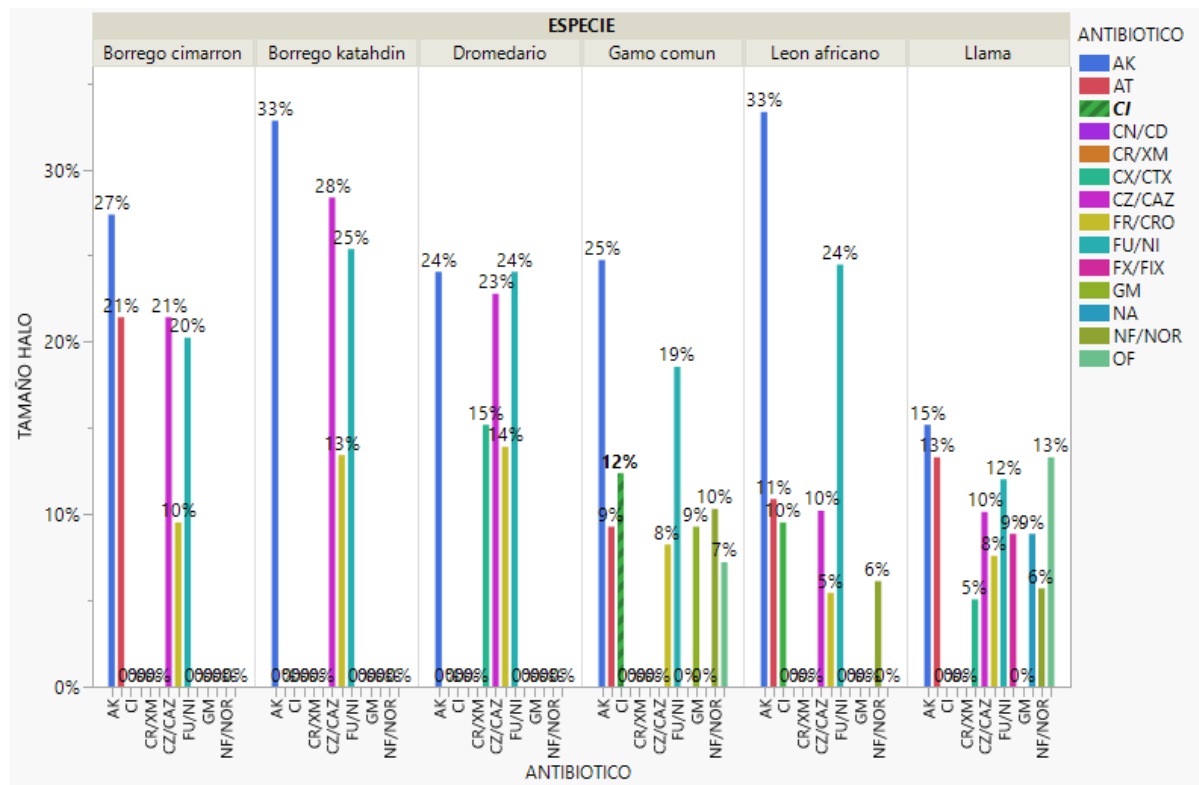
Muestr a	CR/ XM	NF/N OR	AT	CX/C TX	FR/C RO	NA	FU/N I	GM	AK	CI	OF	CZ/C AZ	FX/FI X	CN/C D
C	0	0	0	0	0.9	0	1.7	0	2.2	0	0	1.9	0	0
U	0	0	0	1.2	1.1	0	1.9	0	1.9	0	0	1.8	0	0
D	0	0.9	2.1	0.8	1.2	1.4	1.9	0	2.4	0	2.1	1.6	1.4	0
S	0	0.9	1.6	0	0.8	0	1.7	0	2.5	1.4	0	1.5	0	0
L	0	0	1.8	0	0.8	0	1.7	0	2.3	0	0	1.8	0	0
F	0	0	0	0	0	0	1.9	0	2.4	0	0	0	0	0
I	0	1	1	0	0.8	0	1.8	0.9	2.4	1.2	0.7	0	0	0

Tabla 3. Antibiogramas de diferentes muestras donde se midió el diámetro de halo de inhibición (mm), **CR/XM:** Cefuroxima, **NF/NOR:** Norfloxacin, **AT:** Aztreonam, **CX/CTX:** Cefotaxima, **FR/CRO:** Ceftriaxona, **NA:** Ácido Nalidixico, **FU/NI:** Nitrofurantoina, **GM:** Gentamicina, **AK:** Amikacina, **CI:** Ciprofloxacina, **OF:** Ofloxacina, **CZ/CAZ:** Ceftazidima, **FX/FIX:** Cefixima, **CN/CD:** Cefdinir.

Los resultados de susceptibilidad antimicrobiana obtenidos en los antibiogramas se presentan en la Gráfica 1, donde se muestra la respuesta de los aislados de *Escherichia coli* frente a los antibióticos evaluados.

En las cepas aisladas de borrego cimarrón y borrego katahdin se observó sensibilidad principalmente a amikacina, ceftazidima, nitrofurantoína y, en menor medida, aztreonam y ceftriaxona, mientras que se registró resistencia frente a fluoroquinolonas, aminoglucósidos distintos de amikacina y la mayoría de las cefalosporinas evaluadas. En el caso del dromedario y el gamo común, las cepas mostraron sensibilidad a amikacina y nitrofurantoína, así como a algunas cefalosporinas y fluoroquinolonas específicas, presentando resistencia al resto de los antibióticos analizados.

Por otra parte, las cepas provenientes de leones africanos presentaron sensibilidad a amikacina, nitrofurantoína, aztreonam, ceftazidima y algunas fluoroquinolonas, con resistencia a varias cefalosporinas y aminoglucósidos. Finalmente, las cepas aisladas de llama mostraron un espectro de sensibilidad más amplio, incluyendo amikacina, aztreonam, nitrofurantoína, ofloxacina y ciertas cefalosporinas, mientras que se observó resistencia principalmente a ciprofloxacina, cefdinir, cefuroxima y gentamicina.



Gráfica 1. Porcentajes de sensibilidad antimicrobiana de los aislados de *Escherichia coli* frente a los antibióticos evaluados, agrupados por especie animal.

Finalmente cada cepa de cada individuo se probó para la presencia de los genes *shv*, *tem* y *tla* con la finalidad de ver si las cepas por individual muestran a presencia de ambos genes (Tabla 4)

MUESTRAS										
PRIMER	C6	I1	I6	L1	L6	U1	D1	D6	F9	S7
<i>shv</i>	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
<i>tem</i>	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
<i>tla</i>	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

Tablas 4: Presencia de los genes de resistencia *shv*, *tem* y *tla*, en las cepas de *E. coli* de los distintos individuos muestreados

Las especies que muestran la presencia de cepas multirresistentes con al menos dos genes son: Borrego katahdin, Llama, León africano, Gamo común, Borrego cimarrón, León africano y Dromedario (Tabla 5).

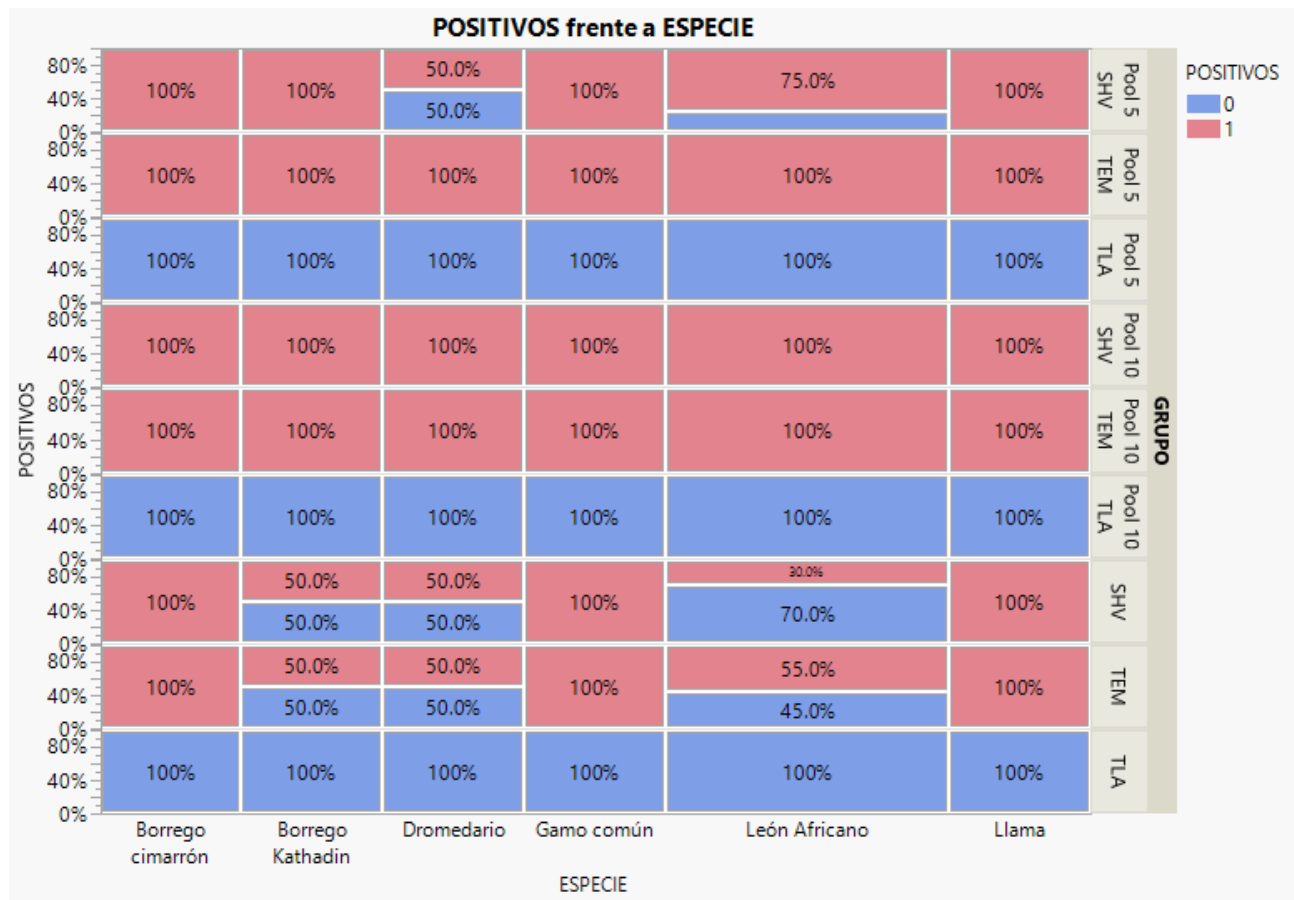
CÓDIGO	NOMBRE	ESPECIE	NOMBRE CIENTÍFICO	SEXO
C6	Borrego Kathadin	Borrego katahdin	<i>Ovis aries</i>	Macho
D1, D6	Llama	Llama	<i>Lama glama</i>	Hembra
F9	Emiliano	León africano	<i>Panthera leo</i>	Macho
I1, I6	Gamo Fallow	Gamo común	<i>Dama dama</i>	Macho
L1, L6	Borrego cimarrón	Borrego cimarrón	<i>Ovis canadensis</i>	Sin sexo
S7	Zapata	León africano	<i>Panthera leo</i>	Macho
U1	Camila adulto	Dromedario	<i>Camelus dromedarius</i>	Hembra

Tabla 5. Individuos y especies positivos a la presencia de los genes de resistencia *shv*, *tem* y *tla*.

Frecuencias

Se evaluó la presencia de genes de resistencia en cepas de *Escherichia coli* aisladas de cada especie analizada. En algunas especies, ambos genes evaluados se detectaron en todas las cepas analizadas de un mismo individuo, lo cual nos podría indicar la presencia de clonas, sin embargo, existen cepas de *E. coli* dentro de los individuos que no presentan los dos genes, indicándonos la presencia de variantes genéticas, las especies que presentaron variaciones son: borrego katahdin, dromedario y león africano.

En la gráfica 2 se muestran en color rojo las muestras positivas para genes de resistencia y en azul aquellos que resultaron negativas. Las agrupaciones de 10 para los genes *shv* y *tem* tuvieron un 100% de positividad., De igual manera las agrupaciones de 5 cepas evaluados para el gen *tem*, presentaron un 100% de positividad. En contraste, las agrupaciones de 5 cepas evaluadas para el gen *shv*, mostraron un 50% de positividad en dromedario y un 75% león africano. Por otro lado, se evaluaron 10 muestras por especie, en donde el gen *shv* y gen *tem* mostraron un 50% para borrego katahdin y dromedario. Por el contrario, la muestra correspondiente al león africano reveló un 30% para el gen *shv* y un 55% para el gen *tem*. Finalmente, el gen *tla* tuvo el 100% de las muestras negativas.



Gráfica 2. Porcentaje de positividad de los genes *shv*, *tem* y *tla* en aislados bacterianos obtenidos de diferentes especies animales. Se observaron altos porcentajes de positividad (100 %) para los genes *shv* y *tem* en la mayoría de las especies analizadas. Asimismo, se registraron variaciones entre especies, donde el león africano presentó porcentajes intermedios de positividad (30–70 %), mientras que el borrego katahdin y el dromedario mostraron valores cercanos al 50 % para algunos genes evaluados. El gen *tla* no se detectó en ninguna de las muestras analizadas.

Para el grupo de PCR individual (Tabla 9), con respecto al gen *shv*, podemos encontrar diferencias significativas ($p < 0.05$), teniendo a las especies borrego cimarrón, gamo común y llama con frecuencias altas, del 70% y 50% respecto a las demás especies estudiadas.

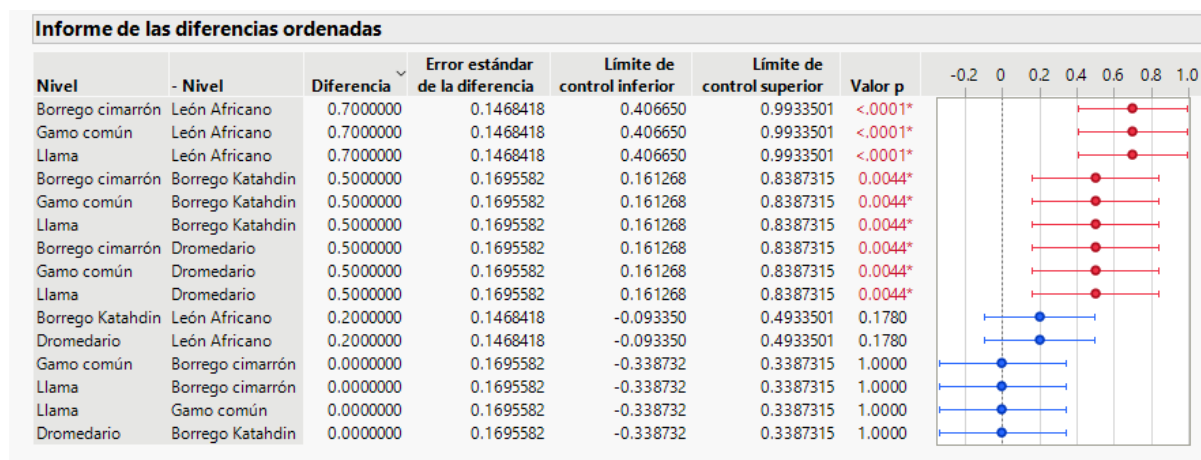


Tabla 9. Análisis de T de Student para el grupo de muestras individuales con respecto al gen *shv*

Por último, en el grupo de PCR individual con respecto al gen *tem*, también se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) donde, de igual manera, el borrego cimarrón, el gamo común y la llama, predominaron con frecuencias positivas en un 50% y 45%, en comparación del borrego katahdin, león africano y dromedario.

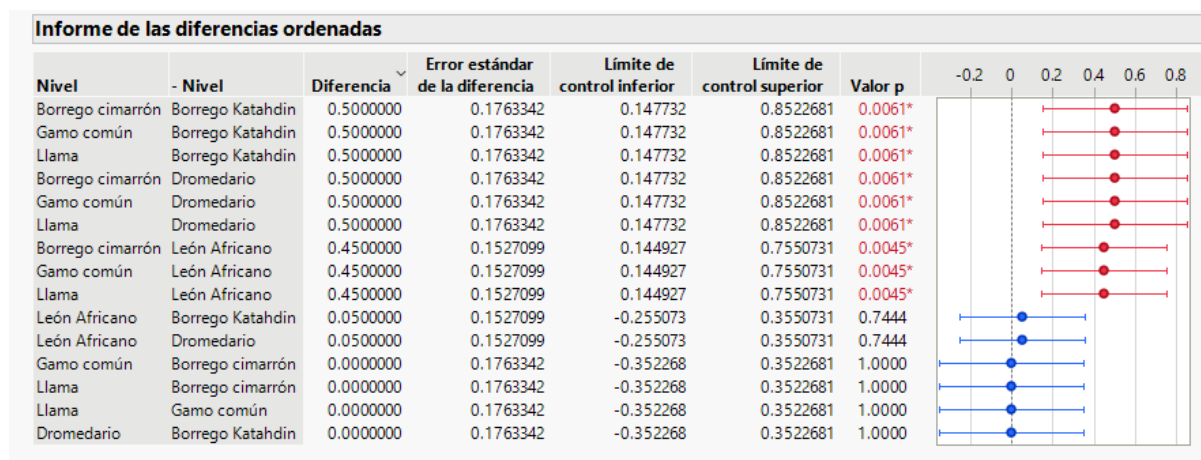


Tabla 10. Análisis de T de Student para el grupo de muestras individuales con respecto al gen *tem*

Discusión

Los resultados obtenidos en este estudio confirman la presencia de *E. coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (ESBL) en distintas especies provenientes del Zoológico de Zacango. Esta información nos daría indicios sobre la gran importancia del papel de estos animales como reservorios de cepas de *E. coli* con genes de resistencia, lo que podría contribuir a la existencia y circulación de enterobacterias multirresistentes en

ambientes controlados, como podría ser el caso de zoológicos y reservas naturales (Martischang *et al.*, 2021).

Los datos de las 210 cepas resistentes a carbenicilina y ceftiofur, al igual que las 70 cepas de *E. coli* identificadas con genes de resistencias a las betalactamasas, coincide con lo reportado por Argudín *et al.* (2017), quienes informan sobre la presencia de ESBL en animales suele ser más frecuente de lo que se pensaba.

La amplificación de los genes *tem* y *shv* en la mayoría de los individuos coincide con diversos estudios, donde se señala a estos genes como ampliamente distribuidos en enterobacterias de origen animal y ambiental (Bajaj *et al.*, 2016; Doi *et al.*, 2017). Por otro lado, la ausencia total del gen *tla*, va de acuerdo con estudios previos que indican que este tipo de betalactamasa, es menos prevalente en *E. coli*, lo cual se puede asociar a que los genes están codificados en los cromosomas y no en plásmidos, siendo que las ESBL predominantes en fauna silvestre suelen corresponder a las familias TEM, SHV y CTX-M (Tseng *et al.*, 2023).

Por último, los resultados del antibiograma mostraron un patrón compatible con la producción de ESBL, demostrado por la resistencia observada frente a cefalosporinas de tercera generación como cefotaxima y ceftriaxona, así como otras cefalosporinas evaluadas. Este comportamiento coincide con la literatura, donde se reporta que las enzimas de las familias *tem* y *shv* hidrolizan cefalosporinas de amplio espectro, arriesgando su eficacia terapéutica (Juraschek *et al.*, 2022; Doi *et al.*, 2017). De manera general, los aislamientos presentaron sensibilidad variable a antibióticos como amikacina, nitrofurantoína y ceftazidima, mientras que la resistencia fue más frecuente frente a diversas cefalosporinas y algunas fluoroquinolonas, lo cual coincide con la distribución de genes ESBL descrita en enterobacterias de origen animal y ambiental (Bajaj *et al.*, 2016). De igual manera, se observaron variaciones en la frecuencia de genes de resistencia entre las especies estudiadas, especialmente en borrego cimarrón, llama y gamo común; además, la detección de genes fue más frecuente cuando se analizaron agrupaciones de cinco o más cepas por individuo, lo que podría sugerir que el número de aislamientos evaluados puede influir en la probabilidad de identificar genes de resistencia.

Conclusión

La identificación y caracterización de la presencia de *E. coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (ESBL) en diferentes especies animales del Zoológico de Zacango, demuestra que la resistencia antimicrobiana está ampliamente distribuida incluso en fauna silvestre bajo cuidado humano. De las 38 muestras recolectadas, 21 mostraron crecimiento positivo a enterobacterias, recuperaron 210 cepas con resistencia a antibióticos betalactámicos. Con ayuda del PCR, se confirmaron 70 cepas de *E. coli* provenientes de siete individuos que portaban al menos dos genes de resistencia *shv* y *tem*, mientras que el gen *tla* no se detectó en ninguna de las muestras evaluadas.

Los antibiogramas mostraron patrones de multirresistencia, con una sensibilidad limitada principalmente hacia amikacina, nitrofurantoína y ceftazidima, con variaciones entre especies. Las frecuencias más altas de genes de resistencia se observaron en especies herbívoras como el borrego cimarrón, la llama y el gamo común. La presencia de variaciones entre cepas dentro de un mismo individuo sugiere la coexistencia de diferentes géneros bacterianos y el intercambio genético.

La presencia de genes de resistencia como *shv* y *tem* en estas cepas puede atribuirse a diversos mecanismos genéticos que facilitan su movilidad y persistencia. En particular, se reconoce el papel fundamental de plásmidos conjugativos, que actúan como vehículos para diseminar genes de resistencia entre bacterias de la misma o distinta especie. Asimismo, los transposones permiten la penetración y movilización de estos genes dentro y entre diferentes plásmidos y cromosomas, aumentando su propagación. Estos mecanismos, junto con la transferencia horizontal de genes, son de suma importancia en la rápida diseminación de la multirresistencia en poblaciones bacterianas presentes en ambientes compartidos, como podría ser el caso de los zoológicos.

Los resultados de esta investigación remarcen la necesidad de mantener y fortalecer programas de vigilancia microbiológica en fauna silvestre bajo cuidado humano, así como estrategias de manejo antimicrobiano que consideren los riesgos asociados a la movilización de genes de resistencia.

Bibliografía.

1. Argudín, M., 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*, 6(2), 12. <https://doi.org/10.3390/antibiotics6020012>
2. Ayala, G. U., Chuquimia, J. A., & Mamani, G. A. (2018). Resistencia bacteriana por beta lactamasas de espectro extendido: Un problema creciente. *Revista Médica La Paz*, 24(2), 77–83.
3. Bajaj, P., Singh, N. S., & Viridi, J. S. (2016). Escherichia coli β -Lactamases: What Really Matters. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00417>
4. 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 2014–2022. *Science In One Health*, 3, 100083. <https://doi.org/10.1016/j.soh.2024.100083>
5. Del Carmen Rocha-Gracia, R., Lozano-Zarain, P., Cázarez, Z. G., Alonso, C. A., Brambila, E., Torres, C., & Cortés-Cortés, G. (2022). IncFIB plasmids carrying the resistance gene blaCTX-M-15 in ESBL-producing Escherichia coli clones from pediatric patients. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 16(03), 500–506. <https://doi.org/10.3855/jidc.15080>
6. Dikoumba, A., Nguema, P. P. M., Yinda, L. E. D. O., Lendamba, R. W., Mbeang, J. C. O., Atome, G. R. N., Koumba, C. R. Z., Godreuil, S., & Onanga, R. (2024). 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*, 13(11), 1059. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13111059>
7. Doi, Y., Iovleva, A., & Bonomo, R. A. (2017). The ecology of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in the developed world. *Journal Of Travel Medicine*, 24(suppl_1), S44 - S51. <https://doi.org/10.1093/jtm/taw102>
8. Esposito, F., Sellera, F. P., Cardoso, B., Brandt-Almeida, D., Vargas-Otalora, S., Cifuentes, S., Cortez, M., & Lincopan, N. (2024). Ciprofloxacin-induced mucoviscosity in ESBL-positive Escherichia coli carrying the Klebsiella pneumoniae K23 capsular structure hinders phagocytosis. *Microbial Pathogenesis*. Advance online publication. 107207. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2024.107207>
9. Gallichan, S., Forrest, S., Picton-Barlow, E., McKeown, C., Moore, M., Heinz, E., Feasey, N. A., Lewis, J. M., & Graf, F. E. (2024). Optimized methods for the targeted

surveillance of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in human stool. *Microbiology Spectrum*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1128/spectrum.01058-24>

10. 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>

11. 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*, 115(51), 12872-12877. <https://doi.org/10.1073/pnas.1717162115>

12. Kuan, N., Chen, Y., Shien, J., & Yeh, K. (2024). Characteristics of the extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from diseased livestock and poultry in Taiwan. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-80943-9>

13. 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>

14. 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 and Infection Control*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/s13756-021-01013-7>

15. Poirel, L., Madec, J., Lupo, A., Schink, A., Kieffer, N., Nordmann, P., & Schwarz, S. (2018). Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. *Microbiology Spectrum*, 6(4). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.arba-0026-2017>

16. 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>

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

