

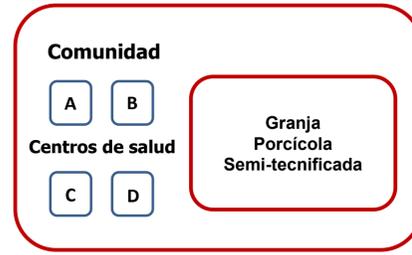
## Introducción

*Escherichia coli* productora de β-lactamasas de espectro extendido (BLEE) se destaca como un patógeno de prioridad crítica debido a su implicación en enfermedades tanto intrahospitalarias como comunitarias, para las cuales hay escasas opciones de tratamiento antimicrobiano<sup>1</sup>. La creciente resistencia a los antimicrobianos constituye una amenaza significativa para la salud global, donde la resistencia a cefalosporinas de tercera generación (C3G) emergen como un desafío crítico en la interfaz salud humana-animal<sup>2</sup>. La inocuidad de los animales de consumo junto con la RAM se ha convertido en una preocupación en el enfoque de Una Salud<sup>3,4</sup>.

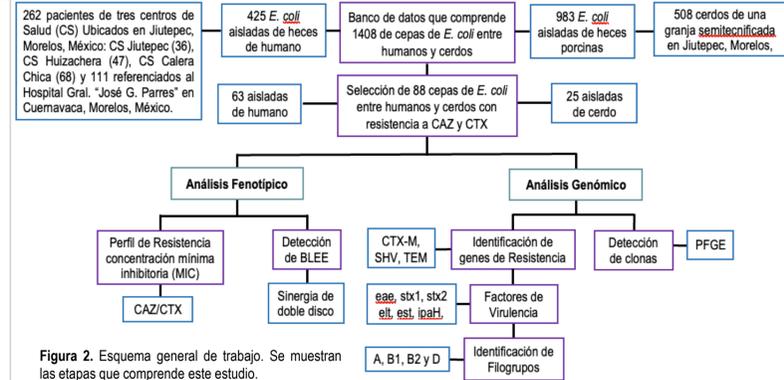
## Objetivo

Caracterizar aislamientos de *Escherichia coli* resistentes a C3G de origen porcino y humano para ver la asociación entre estas poblaciones.

## Metodología



**Figura 1. Modelo de interfase salud humana-animal utilizado en el estudio.** La granja porcícola y los Centros de Salud que se muestrearon (A= Centro de Salud Calera Chica, B=Huizachera, C=Calera Chica) se localizan en el municipio de Jiutepec, Morelos, México y D= Hospital General Dr. José G. Parres de Cuernavaca, Morelos, México.



**Figura 2. Esquema general de trabajo.** Se muestran las etapas que comprende este estudio.

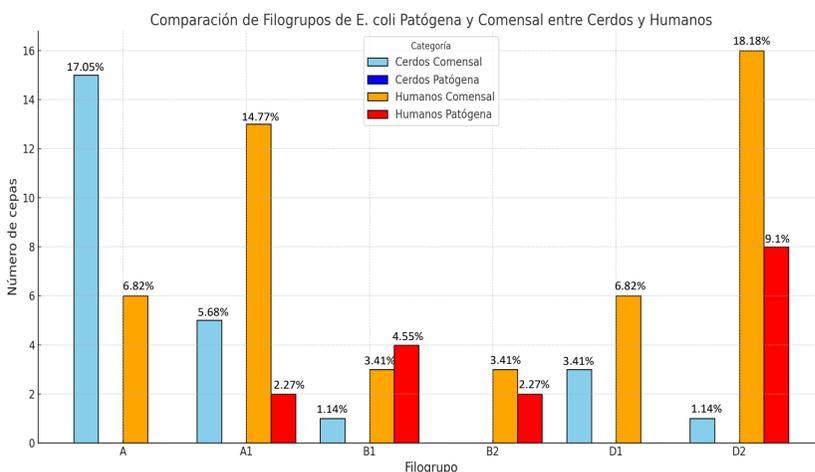
## Resultados

Los aislamientos de *E. coli* de cerdos presentan alta similitud genética en los grupos resaltados (cajas rojas), indicando posible transmisión o clonación de cepas dentro del ambiente porcino. Las cepas agrupan perfiles similares de resistencia, sugiriendo una posible presión selectiva en el uso de antibióticos específicos como AMP (ampicilina), NAL (ácido nalidíxico) y TET (tetraciclina). Algunos aislamientos portan genes como CTX-M-55 y CTX-M-14, que codifican betalactamasas de espectro extendido (BLEE), permitiendo resistencia a cefalosporinas. Esto es alarmante en cerdos, ya que estos genes suelen estar vinculados a resistencia clínica grave en humanos (Figura 1A). La diversidad genética en humanos puede reflejar la exposición a una mayor variedad de fuentes ambientales, alimentarias, o contactos zoonóticos con animales. En humanos, se observa un perfil de resistencia más amplio, probablemente debido al uso clínico de antibióticos como cefalosporinas y fluoroquinolonas. La presencia de CTX-M-14 y CTX-M-55 en humanos es preocupante sugiriendo una posible transmisión desde animales o el ambiente (Figura 1B).

| Antibiótico | Cerdos         |                 |              | Humanos         |                 |              |
|-------------|----------------|-----------------|--------------|-----------------|-----------------|--------------|
|             | Patógena (n=0) | Comensal (n=25) | Total (n=25) | Patógena (n=16) | Comensal (n=47) | Total (n=63) |
| AMP         | 0 (0.00%)      | 25 (28.41%)     | 25 (28.41%)  | 12 (13.64%)     | 44 (50.00%)     | 56 (63.64%)  |
| CAZ         | 0 (0.00%)      | 1 (1.14%)       | 1 (1.14%)    | 5 (5.68%)       | 9 (10.23%)      | 14 (15.91%)  |
| CTX         | 0 (0.00%)      | 0 (0.00%)       | 0 (0.00%)    | 0 (0.00%)       | 0 (0.00%)       | 0 (0.00%)    |
| CAZ/CTX     | 0 (0.00%)      | 24 (27.27%)     | 24 (27.27%)  | 11 (12.5%)      | 38 (43.18%)     | 49 (55.68%)  |
| GEN         | 0 (0.00%)      | 15 (17.05%)     | 15 (17.05%)  | 8 (9.1%)        | 27 (30.68%)     | 35 (39.78%)  |
| CIP         | 0 (0.00%)      | 16 (18.18%)     | 16 (18.18%)  | 3 (3.41%)       | 28 (31.82%)     | 31 (35.23%)  |
| NAL         | 0 (0.00%)      | 24 (27.27%)     | 24 (27.27%)  | 12 (13.64%)     | 42 (47.73%)     | 54 (61.37%)  |
| SXT         | 0 (0.00%)      | 18 (20.45%)     | 18 (20.45%)  | 12 (13.64%)     | 38 (43.18%)     | 50 (56.82%)  |
| TET         | 0 (0.00%)      | 22 (25.00%)     | 22 (25.00%)  | 11 (12.5%)      | 37 (42.05%)     | 48 (54.55%)  |

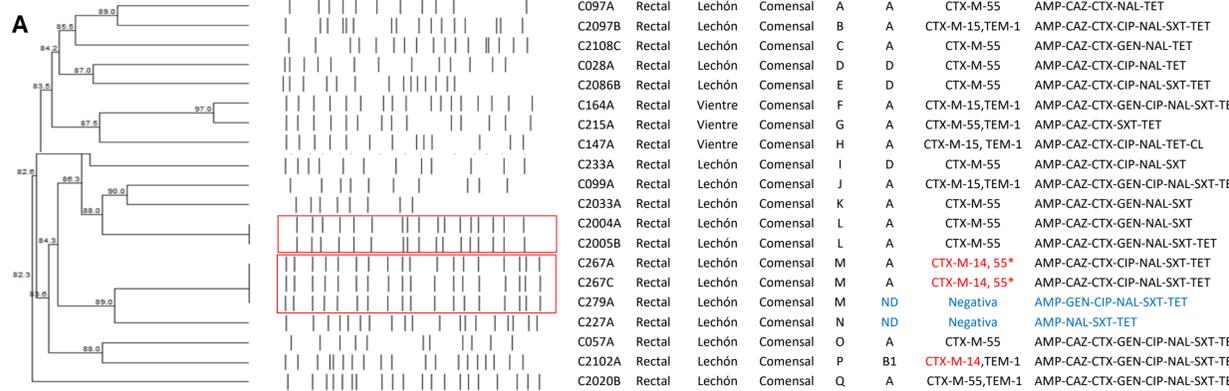
**Figura 1. Resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* aislada de materia fecal de cerdos y humanos.** AMP= Ampicilina, CAZ= Cefotazidima, CTX= Cefotaxima, GEN= Gentamicina, CIP= Ciprofloxacino, NAL= Ácido nalidíxico, SXT= Sulfametoxazol/trimetoprim, TET= Tetraciclina.

Los filogrupos B1, B2, y D2 están más relacionados con patogenicidad, mientras que los filogrupos A y A1 son predominantemente comensales. El filogrupo D2 se asocia con la patogenicidad en cerdos y humanos, pero es dominante en humanos, lo que subraya su importancia como filogrupo patógeno.



**Figura 2. Frecuencia de filogrupos en cepas de *E. coli* patógenas y comensales aisladas de cerdos y humanos.** El gráfico ilustra la distribución de los filogrupos de *E. coli* comensal y patógena en cerdos y humanos, destacando las diferencias en la representación de cada filogrupo.

Entre las cepas de *E. coli* patógenas aisladas de humanos, los patotipos más frecuentes fueron EIEC y DAEC. En cerdos todas las cepas fueron comensales.



| Cepa   | Origen | Función zootécnica | Patotipo <i>E. coli</i> | PFGE | Filogrupo | TIPO DE BLEE    | Perfil susceptibilidad          |
|--------|--------|--------------------|-------------------------|------|-----------|-----------------|---------------------------------|
| C097A  | Rectal | Lechón             | Comensal                | A    | A         | CTX-M-55        | AMP-CAZ-CTX-NAL-TET             |
| C2097B | Rectal | Lechón             | Comensal                | B    | A         | CTX-M-15,TEM-1  | AMP-CAZ-CTX-CIP-NAL-SXT-TET     |
| C2108C | Rectal | Lechón             | Comensal                | C    | A         | CTX-M-55        | AMP-CAZ-CTX-GEN-NAL-TET         |
| C028A  | Rectal | Lechón             | Comensal                | D    | D         | CTX-M-55        | AMP-CAZ-CTX-CIP-NAL-TET         |
| C2086B | Rectal | Lechón             | Comensal                | E    | D         | CTX-M-55        | AMP-CAZ-CTX-CIP-NAL-SXT-TET     |
| C164A  | Rectal | Vientre            | Comensal                | F    | A         | CTX-M-15,TEM-1  | AMP-CAZ-CTX-GEN-CIP-NAL-SXT-TET |
| C215A  | Rectal | Vientre            | Comensal                | G    | A         | CTX-M-55,TEM-1  | AMP-CAZ-CTX-SXT-TET             |
| C147A  | Rectal | Vientre            | Comensal                | H    | A         | CTX-M-15, TEM-1 | AMP-CAZ-CTX-CIP-NAL-TET-CL      |
| C233A  | Rectal | Lechón             | Comensal                | I    | D         | CTX-M-55        | AMP-CAZ-CTX-CIP-NAL-SXT         |
| C099A  | Rectal | Lechón             | Comensal                | J    | A         | CTX-M-15,TEM-1  | AMP-CAZ-CTX-GEN-CIP-NAL-SXT-TET |
| C2033A | Rectal | Lechón             | Comensal                | K    | A         | CTX-M-55        | AMP-CAZ-CTX-GEN-NAL-SXT         |
| C2004A | Rectal | Lechón             | Comensal                | L    | A         | CTX-M-55        | AMP-CAZ-CTX-GEN-NAL-SXT         |
| C2005B | Rectal | Lechón             | Comensal                | L    | A         | CTX-M-55        | AMP-CAZ-CTX-GEN-NAL-SXT-TET     |
| C267A  | Rectal | Lechón             | Comensal                | M    | A         | CTX-M-14, 55*   | AMP-CAZ-CTX-CIP-NAL-SXT-TET     |
| C267C  | Rectal | Lechón             | Comensal                | M    | A         | CTX-M-14, 55*   | AMP-CAZ-CTX-CIP-NAL-SXT-TET     |
| C279A  | Rectal | Lechón             | Comensal                | M    | ND        | Negativa        | AMP-GEN-CIP-NAL-SXT-TET         |
| C227A  | Rectal | Lechón             | Comensal                | N    | ND        | Negativa        | AMP-NAL-SXT-TET                 |
| C057A  | Rectal | Lechón             | Comensal                | O    | A         | CTX-M-55        | AMP-CAZ-CTX-GEN-CIP-NAL-SXT-TET |
| C2102A | Rectal | Lechón             | Comensal                | P    | B1        | CTX-M-14,TEM-1  | AMP-CAZ-CTX-GEN-CIP-NAL-SXT-TET |
| C2020B | Rectal | Lechón             | Comensal                | Q    | A         | CTX-M-55,TEM-1  | AMP-CAZ-CTX-GEN-CIP-NAL-SXT-TET |

**Figura 4. Dendrogramas de la Electroforesis en Campos Pulsados (PFGE) de cepas de *E. coli* colonizantes y/o causantes de diarrea aisladas de cerdos (A) y humanos (B).** Relación clonal por XbaI-PFGE de 31 aislamientos representativos de *E. coli* aislados de heces de cerdos y humano identificadas como comensales (ausencia de genes de patotipos) o patógenas (presencia de genes de algún patotipo). Los antibióticos analizados son: AMP= Ampicilina, CAZ= Cefotazidima, CTX= Cefotaxima, GEN= Gentamicina, CIP= Ciprofloxacino, NAL= Ácido nalidíxico, SXT= Sulfametoxazol/trimetoprim, TET= Tetraciclina. En letras rojas se enfatiza la CTX-M-14 en cerdos y CTX-M-15 en humanos identificada por análisis de la secuencia nucleotídica del amplión de la cepa C2033A en cerdos y del genoma de la cepa HA-021A en humanos. ND= No determinado. \*Centros de Salud de obtención de muestras en Jiutepec, Mor.: 1-CS Jiutepec, 2-CS Huizachera, 3- CS Calera Chica, 4-Hospital General de Cuernavaca "Dr José G. Parres, Cuernavaca, Mor. Los paneles en rojo muestran la agrupación de 11/31 cepas representativas de humanos en 4 clústeres y 5/20 representativas de cerdos en dos clústeres. El porcentaje de similitud entre las cepas se representó en un dendrograma de homología utilizando el algoritmo UPGMA.

## Discusión

- En este estudio se observó una resistencia a cefalosporinas de tercera generación, específicamente cefotaxima (CTX) y cefotazidima (CAZ), en el 56% de los aislados de humanos y en el 28% de los aislados de cerdos. Es relevante destacar que estos antibióticos son de uso común en el tratamiento de infecciones por *E. coli* en humanos, pero no se utilizan en la industria pecuaria ni como profilácticos ni como promotores de crecimiento.
- Se realizó la identificación molecular de genes blaCTX-M pertenecientes a los grupos 1 y 9, relacionados con la resistencia a CAZ y CTX de *E. coli* aislada de humanos y cerdos. En humanos, 17/88 (19.32%) fueron positivos para el gen blaCTX-M-15 y blaCTX-M-55 (Grupo CTX-M-1), y 4/88 (4.55%) amplificaron para los genes blaCTX-M-14 y blaCTX-M-27 (Grupo CTX-M-9). En cerdos, 17/88 (19.32%) fueron positivos para el gen blaCTX-M-55 y blaCTX-M-15 (Grupo CTX-M-1), y 3/88 (3.41%) amplificaron para el gen blaCTX-M-14 (Grupo CTX-M-9). Ambos grupos comparten genes CTX-M-14 y CTX-M-55, indicando una conexión epidemiológica que podría ser zoonótica o ambiental<sup>2</sup>.
- En cuanto a los filogrupos, el filogrupo A asociado a cepas comensales y de origen animal tuvo mayor presencia en cerdos (17.05%) que en humanos (6.82%). El filogrupo A1, aunque con características asociadas a patogenicidad también se asocia a cepas comensales teniendo menor presencia en cerdos (5.68%) y mayor en humanos (14.77%). El filogrupo B2, exclusivo de humanos y relacionado con la patogenicidad mostró valores similares en cepas patógenas (2.27%) y comensales (3.41%). El filogrupo D1, asociado principalmente a cepas comensales, se encontró más en cepas comensales de humano (6.82%). El filogrupo D, predominante en humanos se encontró en un 9.1% en cepas de *E. coli* patógenas con patotipo DAEC.
- El análisis de campos pulsados mostró la presencia de 2 clonas mayoritarias en humanos (L y M), mientras que en los aislados de cerdos se identificaron 4 clonas (M, N, Q, T) y 3 subclonas (N1, N2, T1). Los aislamientos humanos muestran mayor diversidad genética, probablemente debido a una mayor variedad de fuentes de exposición y factores selectivos. En cerdos, las cepas tienden a agruparse genéticamente, lo que podría reflejar clonalidad dentro de las granjas o transmisión entre individuos en condiciones de alta densidad.

## Conclusión

- La presencia de genes blaCTX-M-Grupo 1 y blaCTX-M-Grupo 9 detectados en los aislados de *E. coli* obtenidos en la clínica, que confieren una resistencia o susceptibilidad reducida a CAZ/CTX, podría evidenciar la aparición de un alto porcentaje de poblaciones resistentes a estas cefalosporinas convirtiéndose en una grave amenaza para el manejo clínico de las infecciones.
- El análisis evidencia que los filogrupos B1, B2, y D están asociados significativamente con patogenicidad en humanos, particularmente en Humanos Grupo 2, donde Filogrupo D es el más prevalente. Esto resalta la importancia de monitorear estos filogrupos, especialmente en contextos zoonóticos, para prevenir la transmisión de cepas patógenas.
- El análisis de clonación mostró una mayor diversidad clonal en los aislados humanos y una relación clonal en los aislados de cerdo, sin evidencia de clonalidad directa entre ambas poblaciones. Estos hallazgos, hacen de este trabajo un aporte importante para generar estrategias de prevención y retraso de resistencia en la aplicación de antimicrobianos.

## Referencias

- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, 33rd ed. CLSI supplement M100 (ISBN 978-1-68440-170-3 [Print]; ISBN 978-1-68440-171-0 [Electronic]). Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, 2023.
- Saleem M, Rashid F, Liaqat I, Liaqat I, Ulfat M, Sultan A, Faiz M, Ejaz S, Bibi A. Phenotypic and Molecular Characterization of CTX-M Type B-Lactamasas in Gram Negative Bacterial Strains Isolated from Hospitals, Lahore, Pakistan. *J Oleo Sci*. 2022;71(6):875-879. doi: 10.5650/jos.ess22041.
- Tamayo-Legorreta EM, García-Radilla A, Moreno-Vázquez E, Téllez-Figueroa F, Alpuche-Aranda CM. Diarrheagenic *Escherichia coli* pathotypes isolated from a swine farm in a region of Morelos state, Mexico. *Salud Publica Mex*. 2020 Dec 22;63(1, ene-feb):34-41. doi: 10.21149/11268.
- Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Appl Environ Microbiol*. 2000;66(10):4555-8. doi: 10.1128/AEM.66.10.4555-4558.2000.