



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

IDENTIFICACIÓN DE TRES GENES PRODUCTORES DE β -LACTAMASAS DE
ESPECTRO EXTENDIDO (ESBL) EN CEPAS DE *Escherichia coli* AISLADAS DE UNA
COMPAÑÍA INTEGRADA DE POLLO DE ENGORDA EN 2005

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA:

JOSÉ DE JESÚS GÓMEZ CHÁVEZ

ASESORA:

Dra. CECILIA ROSARIO CORTÉS



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por el apoyo incondicional y su paciencia en todos los años en la carrera.

Al Departamento de Medicina y Zootecnia de Aves de la FMVZ-UNAM por ser mi segunda casa durante el Servicio Social y la realización de mi tesis.

A la Dra. Cecilia Rosario Cortés por darme la oportunidad de trabajar en el Departamento de Medicina y Zootecnia de Aves, por brindarme sus enseñanzas, consejos y tiempo.

A toda mi familia por los grandes momentos que hemos pasado y los que vienen.

A los amigos que hice en la carrera y espero de toda la vida.

A los integrantes del jurado por haber enriquecido este trabajo con sus observaciones y consejos.

ÍNDICE

Página

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
OBJETIVO GENERAL.....	5
OBJETIVOS PARTICULARES.....	5
HIPÓTESIS.....	5
MATERIAL Y MÉTODOS.....	6
RESULTADOS.....	11
DISCUSIÓN.....	15
CONCLUSIÓN.....	20
REFERENCIAS.....	21

Resumen

GOMÉZ CHÁVEZ JOSÉ DE JESÚS. Identificación de tres genes productores de β -lactamasas de espectro extendido (ESBL) en cepas de *Escherichia coli* aisladas de una compañía integrada de pollo de engorda en 2005. Bajo la supervisión de la Dra. Cecilia Rosario Cortés.

Las β -lactamasas de espectro extendido (ESBL) son enzimas capaces de hidrolizar el anillo β -lactámico de una amplia variedad de antibióticos del grupo de los β -lactámicos, y su posible propagación a los humanos a través de los productos de origen animal se ha convertido en un tema importante en Salud Pública. El objetivo de este trabajo fue identificar la presencia de tres genes productores de β -lactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* aisladas en el año 2005 a partir de reproductoras, incubadora y pollo de engorda de una empresa avícola integrada. De las 87 cepas identificadas como *Escherichia coli* se realizó la prueba de PCR punto final para identificar los genes *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX} y *bla*_{CMY}. Se detectó la presencia de por lo menos uno de estos genes en 19 (21.83%) de las cepas, siendo el gen *bla*_{TEM} el más detectado, seguido de *bla*_{CMY}, mientras que *bla*_{CTX} no se identificó en ninguna cepa. En conclusión, la presencia de los genes identificados no son de reciente adquisición, y aunque su presencia en cepas de *Escherichia coli* puede estar relacionada con su propagación al ser humano, es necesario realizar más trabajos para determinar la situación de estos genes en México.

Introducción

Se estima que en los próximos años la carne de ave encabezará el crecimiento en la producción mundial de carne debido al incremento en la demanda de esta proteína animal en comparación con carnes rojas. En el caso del pollo de engorda, los bajos costos de producción y un accesible precio del producto, han contribuido a que esta carne se convierta en una importante opción de consumo en los países en desarrollo (1, 2). Sin embargo, la industria avícola enfrenta un gran número de desafíos, entre ellos están las enfermedades bacterianas que tienen como consecuencia afectación en las metas productivas (3).

Durante largo tiempo los antibióticos se han utilizado para la prevención, control y tratamiento de las enfermedades en los animales, así como promotores de salud intestinal (4, 5). Según estudios, el uso de antibióticos para estos fines ha contribuido a la selección de bacterias resistentes a estos fármacos (6, 7). Las β -lactamasas representan uno de los mecanismos que ciertas bacterias han utilizado para inactivar antibióticos como penicilina y cefalosporinas mediante la hidrólisis del anillo β -lactámico. Existen dos grupos de estas enzimas denominadas β -lactamasas de espectro extendido (ESBL, por sus siglas en inglés) y las β -lactamasas tipo ampC, que son capaces de inactivar β -lactámicos como penicilinas, monobactámicos y cefalosporinas hasta de tercera generación, con la diferencia que las β -lactamasas tipo AmpC son resistentes a la inhibición por ácido clavulánico (8). Se ha demostrado que bacterias de la familia *Enterobacteriaceae*, tales como, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. y *Klebsiella* spp. son las que expresan estos genes con más frecuencia (9, 10). Entre los principales genes que

codifican ESBLs se encuentran *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} y *bla*_{CTX}, mientras que el gen *bla*_{CMY} es el más común entre β -lactamasas de tipo AmpC (11, 12).

El gen *bla*_{CTX} muestra mayor actividad contra cefotaxima y ceftriaxona; *bla*_{TEM} confiere resistencia a ampicilina, amoxicilina, además de oximino-cefalosporinas (cefotaxima, ceftriaxona, cefpodoxima y ceftazidima) y monobactamicos como aztreonam; mientras que *bla*_{SHV} presenta una estructura y función similar a *bla*_{TEM}; por su parte *bla*_{CMY} confiere resistencia a cefalosporinas de hasta tercera generación, así como cefamicinas (13,). A nivel mundial, estos genes también son los más comúnmente descritos en las muestras de pollo de engorda analizadas en los últimos años (14, 15), y se encuentran en elementos móviles como plásmidos.

Aunque la resistencia a antibióticos no es un tema reciente, en el caso del pollo, en los últimos años se ha visto un incremento considerable de aislados bacterianos productores de ESBLs, y debido a la estructura piramidal que tiene la producción de pollo de engorda, estos genes pueden estar presentes en todos los niveles de la cadena de producción a través de la transmisión vertical de estos elementos, además de que la transmisión horizontal de estos genes también ha sido demostrada en diversos trabajos (16, 17, 18). Aunque el uso de antibióticos para uso veterinario como promotores de crecimiento se ha prohibido en gran parte del mundo, la prevalencia de genes productores de ESBL en la avicultura aún persiste (19), y se piensa que además del uso de antibióticos, puede haber otros factores involucrados en su prevalencia como la presencia de estos genes en bacterias en el medio ambiente y en seres humanos que manipulan aves en granjas y rastros (20).

Recientemente, algunas investigaciones han demostrado que existe una propagación de bacterias productoras de ESBL a los humanos a través del consumo de productos cárnicos (21,22). En los aislamientos bacterianos estudiados, especialmente en Europa, se ha observado que la transmisión al ser humano de genes productores de ESBL se da mayormente a través del consumo de carne de pollo (23, 24). Así mismo *Escherichia coli* ha sido descrito como uno de los agentes que constituye un importante reservorio de genes de resistencia a β -lactámicos, por lo que al ser el microorganismo más prevalente en el tracto gastrointestinal de seres humanos y pollos de engorda, se convierte en un problema importante en Salud Pública (25, 26), ya que los tratamientos médicos en humanos para eliminar a este tipo de bacterias se hacen más complejos (27).

El primer reporte de aislamientos de ESBLs en humanos fue en el año de 1983 en Alemania (28); mientras que en México, el primer reporte de ESBLs en humanos fue en 1998 por Silva *et al.*, (29). En el caso del pollo de engorda, existen diversos estudios alrededor del mundo, en los cuales se han establecido prevalencias altas de ESBLs en aislados bacterianos provenientes de muestras de diversas granjas y mercados (30, 31,32). Uno de los pocos trabajos elaborados en México, demostró la presencia de los genes *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX} y *bla*_{CMY} en muestras de carne de pollo que provenía de rastro y punto de venta en el año 2015 (33). Debido a los problemas que se generan en Salud Pública y en empresas avícolas, así como a la escases de información con la que se cuenta en México sobre la presencia de genes de resistencia a β -lactámicos, se realizó la identificación de tres genes productores de β -lactamasas de espectro extendido en cepas de

Escherichia coli aisladas de pollos de engorda en el año 2005 en una empresa avícola integrada.

Objetivo general

Identificar mediante la técnica de PCR la presencia de tres genes productores de β -lactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* aisladas en el año 2005 a partir de reproductoras, incubadora y pollo de engorda de una empresa avícola integrada para determinar si estos genes ya se encontraban en las cepas de pollo de engorda desde esos años o son de reciente adquisición.

Objetivos particulares

Realizar la identificación de las cepas de *Escherichia coli* aisladas por medio de pruebas bioquímicas.

Realizar la identificación de genes productores de los genes *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX} y *bla*_{CMY} en los aislamientos mencionados.

Hipótesis

Los genes que codifican para β -lactamasas de espectro extendido tales como *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX} y *bla*_{CMY} están presentes en cepas de *Escherichia coli* aisladas en 2005 de pollos de engorda de una empresa avícola integrada de pollo de engorda.

Material y métodos

- Aislados de *Escherichia coli*

Este trabajo se realizó en el laboratorio de Diagnóstico e investigación en Enfermedades de las Aves del Departamento de Medicina y Zootecnia de Aves de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. Se trabajó con 97 cepas identificadas como *Escherichia coli* las cuales pertenecen al cepario del Departamento y que se encontraban almacenadas en medio Dorset. Estas muestras fueron obtenidas en 2005 de una compañía integrada de pollo de engorda en el centro del país (reproductoras, incubadoras y pollo de engorda). Las muestras se tomaron de huevo fértil, huevo picado, huevo bomba, pollito de primera, pollito de segunda y pollo de engorda de distintas semanas de edad.

- Identificación de las cepas

Las 97 cepas fueron sembradas en agar métodos estándar y se pusieron a incubar a 37°C durante 24 horas. Los cultivos en donde se observó crecimiento de colonias características de *Escherichia coli*, se resembraron en agar MacConkey y fueron incubados a 37°C durante 24 horas. Posteriormente se realizaron pruebas bioquímicas (SIM, citrato, urea, TSI y LIA) para su identificación. Finalmente se almacenaron las cepas identificadas como *Escherichia coli* en el medio gelosa especial para su posterior uso.

- Extracción del ADN

Se utilizó la técnica descrita por Johnson y Brown (34). Las cepas se incubaron en caldo Luria-Bertani a 37°C por 18 horas. Se centrifugaron en una Microcentrifuga

Prism™ (Labnet Internacional, NJ, USA) a 13,000 RPM, el sobrenadante se eliminó, y cada pastilla bacteriana se resuspendió en 200 µL agua inyectable. Cada muestra de suspensión bacteriana homogenizada se hirvió durante 10 minutos a 100°C en un termobloque AcuuBlock™ (Labnet Internacional, NJ, USA), se centrifugó nuevamente a 13,000 RPM, y finalmente se colectó el sobrenadante que se utilizó como ADN molde para PCR.

- Identificación de genes productores de β-lactamasas de espectro extendido

Para la identificación de los genes que codifican β-lactamasas, *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX} y *bla*_{CMY}, se realizó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) punto final de acuerdo a lo descrito por Johnson *et al* (35). La mezcla para la PCR se introdujo en un termociclador Swift·MaxPro™ (Esco Healthcare, Singapur), contenía 25 µL con los siguientes reactivos. 2.5 µL de PCR buffer 10x, 0.75 µL de 50mM MgCl₂, 0.075 µL de cada iniciador de 0.3 µM, 0.5 µL de 10mM dNTPs, 0.2 µL de 1U Taq polimerasa, 18.9 µL de agua bidestilada y 2 µL del templado (ADN molde). Las condiciones de amplificación en el termociclador para los genes *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX} y *bla*_{CMY}, fueron estandarizadas en un trabajo previo en el departamento de Medicina y Zootecnia de Aves en 2015 por Domínguez (33), las cuales se detallan en el cuadro 1. Los controles positivos y negativos para cada gen, fueron obtenidos de cepas previamente identificadas como *Escherichia coli* en el trabajo previamente mencionado. Los iniciadores utilizados y el tamaño de los amplicones de la PCR se describen en el cuadro 2. Los productos de amplificación se visualizaron por electroforesis a 90 volts en gel de agarosa al

1.5% y TAE 1x (Tris-Ácido acético-EDTA) como amortiguador. Posteriormente se tiñeron con un fluorocromo (bromuro de etidio) y finalmente se visualizaron en un transiluminador. La visualización de una banda de ADN fluorescente en el gel se consideró una muestra positiva (figura 1).

Cuadro 1. Temperaturas y tiempos de amplificación de la PCR para cada gen identificado .

Gen	Inicio	Desnaturalización	Alineamiento	Extensión	Elongación
<i>bla_{TEM}</i>	94°C / 12 min	94°C / 30s	64°C / 30s	72°C / 1.5 min	72°C / 5 min
<i>bla_{CTX}</i>	94°C / 12min	94°C / 30s	63.9°C / 30s	72°C / 1 min	72°C / 10 min
<i>bla_{CMY}</i>	94°C / 12 min	94°C / 30s	61.8°C / 30s	72°C / 2 min	72°C / 5 min

- Se realizaron 30 ciclos de desnaturalización, alineamiento y extensión por cada gen

Cuadro 2. Iniciadores utilizados en la PCR y tamaño esperado de los amplicones en la identificación de ESBLs aislados de *Escherichia coli* en una compañía integrada de pollo de engorda.

Gen	Iniciador	Tamaño del amplicón (pb)	Referencia
<i>bla</i>_{TEM}	F: ATTCTTGAAGACGAAAGGGC R: ACGCTCAGTGGAACGAAAAC	1150	Briñas <i>et al.</i> (2003)
<i>bla</i>_{CTX}	F: CGCTTTGCGATGTGCAG R: ACCGCGATATCGTTGGT	551	Grobner <i>et al.</i> (2009)
<i>bla</i>_{CMY}	F: GACAGCCTCTTTCTCCACA R: TGGAACGAAGGCTACGTA	1000	Li, Sherwood y Logue (2007)

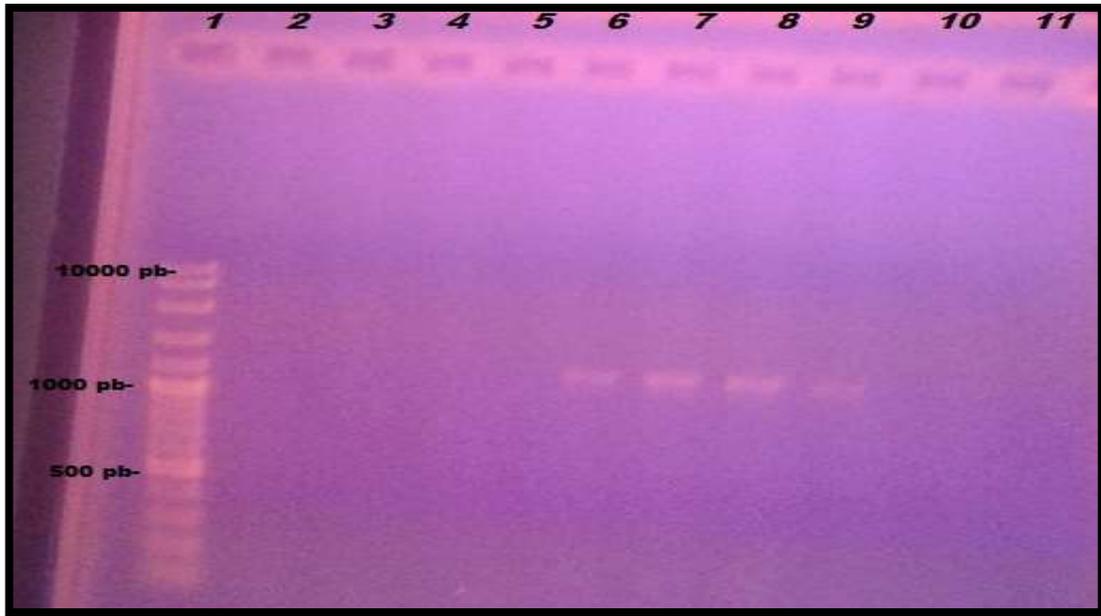


Figura 1. Productos de amplificación de la PCR punto final para el gen *bla*_{TEM}. Carril 1: marcador de peso molecular de 1kb; carriles 2-5: muestras negativas; carriles 6-8: muestras positivas; carril 9: control positivo; carril 10: control negativo; carril 11: vacío.

Resultados

- Purificación y verificación de las cepas

De las 97 cepas que fueron purificadas e identificadas para este estudio, 87 crecieron en el medio MacConkey y posteriormente fueron identificadas como *Escherichia coli* mediante las pruebas bioquímicas.

- Genes productores de ESBL

De las 87 cepas identificadas como *Escherichia coli*, 19 (21.83%) de ellas fueron positivas a la presencia de uno o más genes.

- Genes productores de ESBL encontrados

El gen con más presencia en las cepas analizadas fue *bla*_{TEM} con 15 muestras positivas (17.24%), el gen *bla*_{CMY} fue el segundo más frecuente en las muestras con 7 muestras positivas (8.04%), mientras que el gen *bla*_{CTX} fue negativo en todas las muestras (figura 2).

En su distribución por origen, gen *bla*_{TEM} se encontró con más frecuencia en las muestras analizadas de órganos de embriones de huevos picados, mientras que el gen *bla*_{CMY} se encontró con más frecuencia en las muestras de órganos de pollo de engorda (figura 3).

- Frecuencia entre los genes

De las cepas analizadas, ninguna fue positiva a los tres genes buscados. 3 cepas (3.45%) fueron positivas a dos genes, los genes *bla*_{TEM} y *bla*_{CMY} se encontraron en las mismas cepas (cuadro3).

Figura 2. Distribución de los genes de los genes productores de β -lactamasas de espectro extendido y ampC en los aislados de *Escherichia coli* aisladas de una compañía avícola integrada de pollo de engorda en 2005.

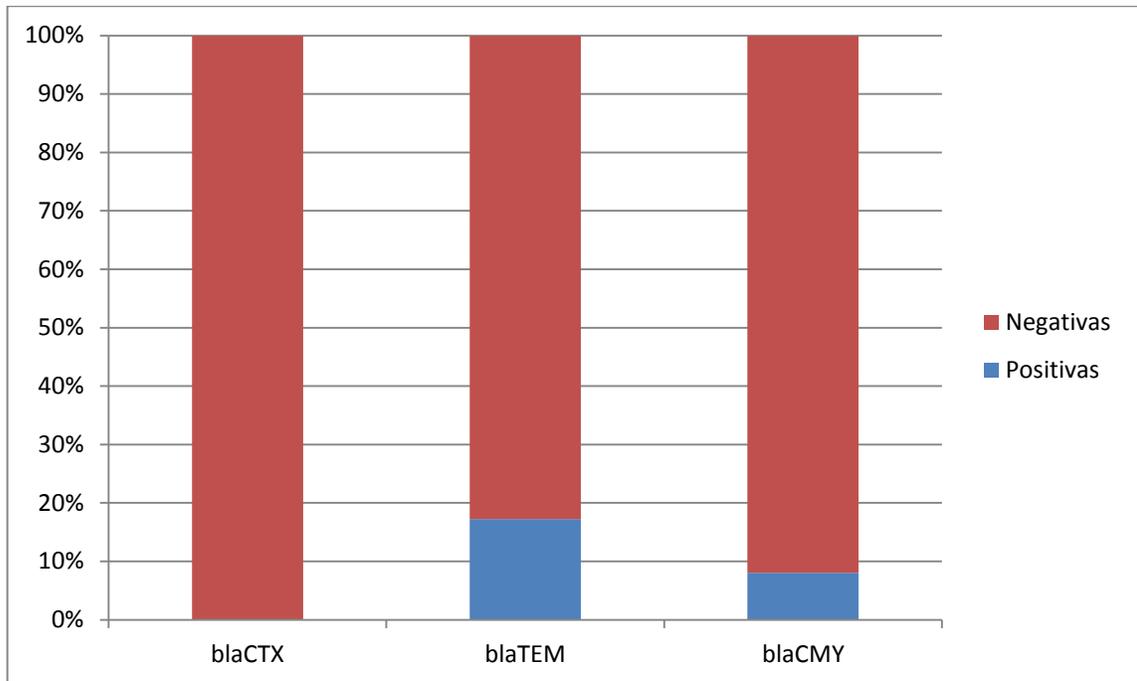
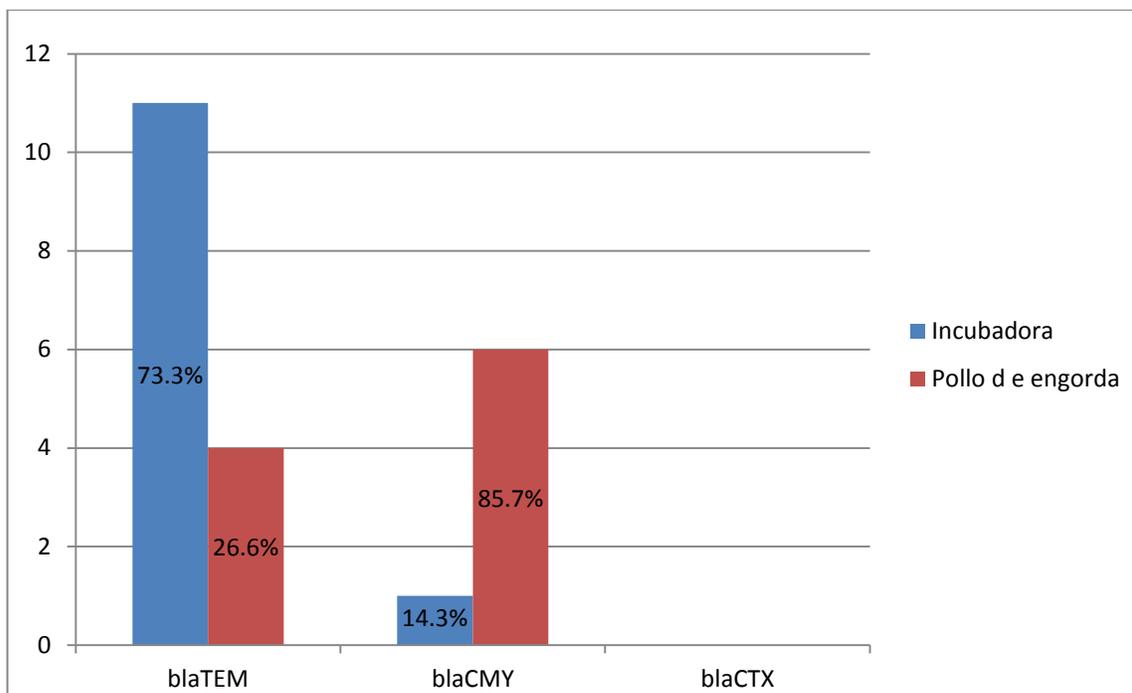


Figura 3. Distribución de acuerdo al origen de los genes positivos a un tipo de β -lactamasa de espectro extendido y ampC en aislados de *Escherichia coli* pertenecientes a pollo de engorda.



*Porcentajes relativos al total de cepas positivas por gen (15 de *bla*_{TEM} y 7 de *bla*_{CMY}).

*Las cepas positivas a dos genes están contabilizadas individualmente por gen.

Cuadro 3. Perfiles de Resistencia identificados en los aislamientos de *Escherichia coli* en muestras de pollo de engorda.

GEN	Numero de cepas	Porcentaje %
<i>bla</i> _{CTX}	0	0
<i>bla</i> _{TEM}	13	14.94
<i>bla</i> _{CMY}	3	3.44
<i>bla</i> _{TEM} y <i>bla</i> _{CMY}	3	3.44
<i>bla</i> _{CMY} y <i>bla</i> _{CTX}	0	0
Negativas	68	78.16
Total	87	100

Discusión

Uno de los problemas actuales en Salud Pública es la cada vez más frecuente identificación de genes productores de ESBLs en pacientes humanos en hospitales, y su relación con la presencia de estos genes en animales de granja, como el pollo de engorda (36,37). Por tal motivo se ha considerado a esta carne un importante reservorio de *Escherichia coli* que codifican estos genes (38).

El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de tres genes productores de β -lactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* aisladas en el año 2005. En este trabajo, los resultados muestran que 21.83% de las muestras analizadas fueron positivas a la presencia de uno o más genes de resistencia. Esta prevalencia es menor a la de otros estudios en años cercanos a 2005 en países europeos como Francia, Bélgica y Holanda, donde se reportan prevalencias por arriba del 50% en pollo de engorda (39, 40). En México no se tiene registro de estudios realizados en años anteriores al 2005 en granjas de pollo de engorda, por lo que sería interesante llevar a cabo investigaciones en diferentes regiones del país y así examinar distintos ceparios para establecer prevalencias para estos genes en esos años.

El gen productor de ESBLs predominante a nivel mundial en aislados obtenidos de pollo de engorda es *bla*_{CTX}. De hecho, se han reportado prevalencias por arriba del 50% en países como España, Alemania y Túnez (41, 42, 43), sin embargo en este estudio no estuvo presente en las muestras analizadas. En relación con esta prevalencia, un estudio en Eslovaquia en 2012, propuso que una posible causa de contaminación de bacterias productoras de ESBLs en canales de pollo de engorda

podría ser la presencia en el ambiente de estas bacterias (44). Con relación a esto, un trabajo en Brasil reportó que el gen *bla*_{CTX} se identificó en aislados de *Salmonella* Corvallis en las instalaciones de un rastro de pollo de engorda (45), en un trabajo hecho en Tailandia encontró la presencia de *Campylobacter* en las instalaciones e indumentaria de trabajadores de un rastro (46), que indica que los trabajadores que laboran en rastros, así como la bioseguridad en ellos, pueden influir en la ruta de transmisión de bacterias en el proceso de producción de pollo de engorda. Un estudio en cinco mercados en México demostró la presencia de bacterias como *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* en diversas muestras de comida, con una incidencia de 43 % para *Escherichia coli* y 5% para *Salmonella* spp. (47). Por lo que se puede inferir que el pollo no siempre es un reservorio de *bla*_{CTX} para los seres humanos, si no que el ambiente y manipulación humana pueden estar relacionados con su incidencia en las canales de pollo.

El gen *bla*_{TEM} fue el que más se encontró en este trabajo (17.24%), contrastando con investigaciones en Europa en 2005 y años más recientes, en las cuales el gen con más presencia en cepas de *E. coli* aisladas de pollo de engorda es *bla*_{CTX} (48, 49). En el caso de Portugal, un estudio reportó en 2005 una prevalencia del 61% para el gen *bla*_{TEM} en muestras de *E. coli* aisladas de pollo de engorda entre los años 2003 y 2005, aunque en comparación, la prevalencia fue menor en este estudio (50). Un estudio en España en 2006 muestra una prevalencia del 3.1% para el gen *bla*_{TEM} en enterobacterias aisladas de carne de pollo (51). En la actualidad las prevalencias también muestran una gran variabilidad, por ejemplo, un estudio en Hamburgo en 2014 estableció una prevalencia de 3% para este gen

(52). En contraste, en Egipto se encontró una prevalencia de 87.9% en muestras para el gen *bla*_{TEM} en aislamientos de *E. coli* que provenían de pollo de engorda (53), cuestión que podría estar relacionada con el uso de antimicrobianos en animales y seres humanos.

Por otra parte, el gen *bla*_{TEM} se encontró en mayor cantidad en las muestras de huevo picado en incubadora, que en las muestras de pollo de engorda. Este hecho podría estar relacionado con lo reportado en otros trabajos, en donde se demostró que *E. coli* se puede transmitir horizontalmente a las granjas de pollo de engorda durante el transporte o incubación, o bien transmitirse verticalmente a través de aves reproductoras (54). Aunque se desconocen datos de carácter zootécnico de la parvada de este estudio; factores como la dieta, adición de probióticos, promotores de salud intestinal y otros aditivos podrían haber influido en la disminución en la prevalencia del gen *bla*_{TEM} en las muestras obtenidas de pollo de engorda (51, 55).

En cuanto al gen *bla*_{CMY}, este mostró una baja prevalencia en nuestro estudio (8.04%), aunque, en diversos estudios en el mundo, se puede observar diferencias en su prevalencia. Aislados de *bla*_{CMY} en mataderos de pollo de engorda en Portugal en 2004 y Francia en 2005 mostraron una prevalencia de 10% - 42% y 29%, respectivamente (56). En Dinamarca, en el periodo comprendido entre los años 2009 y 2011 se analizaron muestras de carne de pollo importada y de producción nacional y se encontró un aumento considerable de 4.7% a 53.5 % en 2011 en el gen *bla*_{CMY} (57).

El gen *bla*_{CMY} a diferencia de *bla*_{TEM} tuvo una mayor prevalencia en muestras de *E. coli* obtenidas de pollo de engorda que de huevo picado en incubadora. En el caso del gen *bla*_{CMY}, estudios realizados en Holanda y Suecia en 2013 demostraron su presencia en aislados de *E. coli* en todos los niveles de la pirámide de producción de pollo de engorda, lo que demuestra una posible transmisión vertical, aunque cabe destacar que en este mismo estudio en Holanda, se observó que el gen *bla*_{CMY} mostró un aumento en su prevalencia a partir de la primera semana de edad en los pollos, lo cual fue un hecho similar a lo observado en nuestro estudio, lo que lleva a suponer en que existe una recirculación de la bacteria en la granja o una posible introducción a través de vectores, que contribuye en su diseminación en pollos de engorda de mayor edad (58, 17). La capacidad de persistir y diseminarse en el medio ambiente por parte de las bacterias productoras de ESBLs es un hecho demostrado, como se reportó en un estudio sobre la adaptación ambiental de *E. coli* en una granja de pollos en Alemania en 2017, en el cual se detectó el gen *bla*_{CMY} en aislados de este microorganismo (59), que podría explicar el aumento en la incidencia de estos genes en los pollos.

En el caso de México, en los últimos años, la resistencia antimicrobiana a antibióticos se ha convertido en un problema en el tratamiento de infecciones en pacientes humanos, *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp. han sido las bacterias más aisladas entre las enterobacterias productoras de ESBLs (60,61). Un estudio realizado con pacientes de 14 hospitales entre 2005 y 2012, reportó que el 70% de aislados bacterianos positivos a *bla*_{CTX} correspondían a *E. coli* y 21.2 % a *Klebsiella* spp. (62). De igual forma entre 2010 y 2011 se identificó *bla*_{CTX} en 85%

de cepas de *E.coli* y en el 76% de los aislados de *K. pneumoniae* en pacientes de distintos hospitales (63). Por su parte *bla*_{TEM} también han sido reportados en pacientes en México aunque en menor prevalencia en los aislados (64). En el caso de *bla*_{CMY}, este no tiene una alta prevalencia en aislados de *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp., pero se encontró en un estudio la presencia de este gen en una alta prevalencia en aislados de *Salmonella enterica* en un estudio en 2017(65).

Un estudio, único en su tipo en 2007 en México, identificó la presencia de *bla*_{CMY} perteneciente a *Salmonella* Typhimurium en muestras de carne de pollo, res y cerdo, niños con diarrea y asintomáticos, pero no se identificó *bla*_{CMY} en intestino de pollo y res (66). Se puede inferir entonces, que la presencia de ESBLs cada vez más frecuente en aislamientos bacterianos en pacientes mexicanos, no está relacionada exclusivamente con la presencia de estos genes en la carne de pollo, como ya se ha mencionado. Por ejemplo, en medicina humana, un estudio hecho en España en 2017 reveló que aproximadamente, el 60% de antibióticos recetados en infecciones respiratorias por médicos de atención primaria eran innecesarios, lo que contribuye a generar bacterias resistentes a la acción de diversos antibióticos (67). En el caso de México y otros países de América Latina, la dosificación incorrecta de antibióticos por parte de los médicos, así como el acceso a éstos sin prescripción médica y la consecuente automedicación por parte de los pacientes en años pasados, son otros de los factores a considerar en el aumento de aislamientos bacterianos multirresistentes (68, 69).

Aunque las prevalencias de los genes identificados en este estudio no hayan sido elevadas en comparación con otros estudios en el mundo, el consumo de carne de

pollo podría ser uno de los factores que ayuda a contribuir en la propagación de bacterias productoras de ESBLs a los humanos. Pero, para obtener conclusiones más precisas se necesitan más estudios en México tanto en seres humanos y animales de abasto para poder determinar el papel que juega el ambiente en la diseminación de estos genes en las parvadas de pollo de engorda y poder tener mayor conocimiento sobre su interacción con los seres humanos.

Conclusión

El presente trabajo demostró que la presencia de β -lactamasas de espectro extendido en una compañía de pollo de engorda no son de reciente adquisición, aunque están en una prevalencia menor a la mayoría de trabajos realizados en la época. Por tal motivo, es necesario realizar trabajos más amplios para tener una visión más clara sobre estos genes en el pollo de engorda en México.

Referencias

1. FIRA. Panorama agroalimentario, Avicultura carne 2016. Dirección de investigación y evaluación económica y sectorial. México. 2016.
2. Zootecnia avícola. 1^a edición. México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2010.
3. Guabiraba R, Schouler C. Avian colibacillosis: Still many black holes. FEMS Microbiol Lett. 2015; 362(15):1–8.
4. Manageiro V, Clemente L, Graça R, Correia I, Albuquerque T, Ferreira E, *et al.* New insights into resistance to colistin and third-generation cephalosporins of *Escherichia coli* in poultry, Portugal: Novel blaCTX-M-166 and blaESAC genes. Int J Food Microbiol. 2017; 263(October):67–73.
5. Brower CH, Mandal S, Hayer S, Sran M, Zehra A, Patel SJ, *et al.* The prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing multidrug-resistant *Escherichia coli* in poultry chickens and variation according to farming practices in Punjab, India. Environ Health Perspect. 2017; 125(7):1–10.
6. Olsen RH, Bisgaard M, Löhren U, Robineau B, Christensen H. Extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from poultry: A review of current problems, illustrated with some laboratory findings. Avian Pathol [Internet]. 2014; 43(3):199–208.
7. Zurfluh K. Quinolone resistance mechanisms among extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* isolated from farm animals in Switzerland. Schweiz Arch Tierheilkd [Internet]. 2015; 157(1):59–62.

8. Jacoby GA, Munoz-Price LS. The New β -Lactamases. N Engl J Med [Internet]. 2005;352(4):380–91.
9. Hijazi SM, Fawzi MA, Ali FM, Abd El Galil KH. Prevalence and characterization of extended-spectrum beta-lactamases producing *Enterobacteriaceae* in healthy children and associated risk factors. Ann Clin Microbiol Antimicrob [Internet]. 2016;15(1):3.
10. Dierikx C, van Essen-Zandbergen A, Veldman K, Smith H, Mevius D. Increased detection of extended spectrum beta-lactamase producing *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* isolates from poultry. Vet.Microbiol.2010;145:273–278.
11. Saliu E-M, Vahjen W, Zentek J. Types and prevalence of extended–spectrum beta–lactamase producing *Enterobacteriaceae* in poultry. Anim Heal Res Rev [Internet]. 2017; 18(1):1–12.
12. Ewers C, Bethe A, Semmler T, Guenther S, Wieler LH. Extended-spectrum β -lactamase-producing and AmpC-producing *Escherichia coli* from livestock and companion animals, and their putative impact on public health: A global perspective. Clin Microbiol Infect [Internet]. 2012; 18(7):646–55.
13. Cecarelli D, Essen-zandbergen A Van, Smid B. Competitive exclusion reduces transmission and excretion of extend-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* in broilers. Appl Environ. 2017; 83(11):1–13.
14. Casella T, Cerdeira LT, Fernandes MR, Souza TA, Haenni M, Madec JY, *et al.* Draft genome sequence of a CTX-M-15-producing *Escherichia coli* ST345 from commercial chicken meat in Brazil. J Glob Antimicrob Resist. 2017; 9:124–5.

15. Geser N, Stephan R, Hächler H. Occurrence and characteristics of extended-spectrum β -lactamase (ESBL) producing *Enterobacteriaceae* in food producing animals, minced meat and raw milk. *BMC Vet Res.* 2012;8(1):21.
16. Dame-Korevaar A, Fischer EAJ, Stegeman A, Mevius D, van Essen-Zandbergen A, Velkers F, *et al.* Dynamics of CMY-2 producing *E. coli* in a broiler parent flock. *Vet Microbiol.* 2017; 203(September 2016):211–4.
17. Dierikx CM, Van Der Goot JA, Smith HE, Kant A, Mevius DJ. Presence of ESBL/AmpC -producing *Escherichia coli* in the broiler production pyramid: A descriptive study. *PLoS One.* 2013;8(11).
18. Sunde M, Ilag HK, Langsrud S, Heir E. Transfer Potential of Plasmids Conferring Extended-Spectrum-Cephalosporin Resistance in *Escherichia coli* from Poultry. *J Appl Environ Microbiol.* 2017;83(12):1–11.
19. Roto SM, Rubinelli PM, Ricke SC. An Introduction to the Avian Gut Microbiota and the Effects of Yeast-Based Prebiotic-Type Compounds as Potential Feed Additives. *Front Vet Sci [Internet].* 2015;2.
20. HIROI M, MATSUI S, KUBO R, IIDA N, NODA Y, KANDA T, *et al.* Factors for Occurrence of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Broilers. *J Vet Med Sci.* 2012; 74(12):1635–7.
21. Day MJ, Rodrı I, Schink A, Wu G, Chattaway MA, Donascimento V, *et al.* Diversity of STs, plasmids and ESBL genes among *Escherichia coli* from humans, animals and food in Germany, the Netherlands and the UK. 2017;(November):1178–82.
22. Jakobsen L, Spangholm DJ, Pedersen K, Jensen LB, Emborg HD, Agersø Y, *et al.* Broiler chickens, broiler chicken meat, pigs and pork as sources of ExPEC

- related virulence genes and resistance in *Escherichia coli* isolates from community-dwelling humans and UTI patients. *Int J Food Microbiol.* 2010;142(1–2):264–72.
23. Agersø Y, Jensen JD, Hasman H, Pedersen K. Spread of Extended Spectrum Cephalosporinase-Producing *Escherichia coli* Clones and Plasmids from Parent Animals to Broilers and to Broiler Meat in a Production Without Use of Cephalosporins. *Foodborne Pathog Dis [Internet].* 2014; 11(9):740–6.
24. Friese A, Schulz J, Laube H, von Salviati C, Hartung J, Roesler U. Faecal occurrence and emissions of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (laMRSA) and ESbl/AmpC-producing *E. coli* from animal farms in Germany. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift.* 2013; 126(3–4):175–80.
25. da Silva KC, Cunha MPV, Cerdeira L, de Oliveira MGX, de Oliveira MCV, Gomes CR, *et al.* High-virulence CMY-2- and CTX-M-2-producing avian pathogenic *Escherichia coli* strains isolated from commercial turkeys. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2017; 87(1):64–7.
26. Allocati N, Masulli M, Alexeyev MF, Di Ilio C. *Escherichia coli* in Europe: An overview. *Int J Environ Res Public Health.* 2013; 10(12):6235–54.
27. Cortés-Cortés G, Lozano-Zarain P, Torres C, Alonso CA, Ríos-Torres AM, Castañeda M, *et al.* Extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from healthy humans in Mexico, including subclone ST131-B2-O25:H4-H30-Rx. *J Glob Antimicrob Resist [Internet].* 2017; 9:130–4.
28. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-Spectrum beta-Lactamases : a Clinical Update. *Clin Microbiol Rev [Internet].* 2005; 18(4):657–86.

29. Silva J, Aguilar C, Estrada MA, Echaniz G, Carnalla N, Soto A, *et al.*
Susceptibility to new beta-lactams of enterobacterial extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producers and penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Mexico. *J Chemother.* 1998;10(December 2017):102–7.
30. Doi Y, Paterson DL, Egea P, Pascual A, López-Cerero L, Navarro MD, *et al.*
Extended-spectrum and CMY-type β -lactamase-producing *Escherichia coli* in clinical samples and retail meat from Pittsburgh, USA and Seville, Spain. *Clin Microbiol Infect.* 2010;16(1):33–8.
31. Overdeest I, Willemsen I, Rijnsburger M, Eustace A, Xu L, Hawkey P, *et al.*
Extended-spectrum β -lactamase genes of *Escherichia coli* in chicken meat and humans, the Netherlands. *Emerg Infect Dis.* 2011; 17(7):1216–22.
32. Mesa RJ, Blanc V, Blanch AR, Cortés P, González JJ, Lavilla S, *et al.* Extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in different environments (humans, food, animal farms and sewage). *J Antimicrob Chemother.* 2006; 58(1):211–5.
33. Domínguez RP. Presencia de β -lactamasas de espectro extendido (ESBL) en cepas de *Escherichia coli* aisladas de canales de pollo provenientes de rastro, supermercados y mercados públicos. (Tesis de licenciatura) México, DF.: FMVZ UNAM. 2015.
34. Johnson JR, Brown JJ. A Novel Multiply Primed Polymerase Chain Reaction Assay for Identification of Variant papG Genes Encoding the Gal (al-4) Gal-Binding PapG Adhesins of *Escherichia coli*. *J Infect Dis.* 1996;(December):920–926.

35. Johnson TJ, Wannemuehler Y, Doetkott C, Johnson SJ, Rosenberger SC, Nolan LK. Identification of minimal predictors of avian pathogenic *Escherichia coli* virulence for use as a rapid diagnostic tool. J Clin Microbiol. 2008; 46(12):3987–96.
36. Harris PNA. Clinical management of infections caused by *Enterobacteriaceae* that express extended-spectrum β -lactamase and AmpC enzymes.pdf. 2015;1(212):56–73.
37. Schill F, Abdulmawjood A, Klein G, Reich F. Prevalence and characterization of extended-spectrum β -lactamase (ESBL) and AmpC β -lactamase producing *Enterobacteriaceae* in fresh pork meat at processing level in Germany. Int J Food Microbiol [Internet]. 2017 Sep 18 [cited 2018 Feb 21]; 257:58–66.
38. Ramadan H, Awad A. Phenotypic and genetic characterization of β -lactam resistance in *Klebsiella* from retail chicken meat in Mansoura , Egypt. 2017; 9(2):74–81.
39. Smet A, Martel A, Persoons D, Dewulf J, Heyndrickx M, Catry B, *et al.* Diversity of extended-spectrum β -lactamases and class C β -lactamases among cloacal *Escherichia coli* isolates in Belgian broiler farms. Antimicrob Agents Chemother. 2008;52(4):1238–43.
40. Hasman H, Mevius D, Veldman K, Olesen I, Aarestrup FM. β -Lactamases among extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-resistant *Salmonella* from poultry, poultry products and human patients in The Netherlands. J Antimicrob Chemother. 2005;56(1):115–21.

41. Reich F, Atanassova V, Klein G. Extended-spectrum β -lactamase- and ampc-producing enterobacteria in healthy broiler chickens, Germany. *Emerg Infect Dis*. 2013;19(8):1253–9.
42. Maamar E, Hammami S, Alonso CA, Dakhli N, Abbassi MS, Ferjani S, *et al*. High prevalence of extended-spectrum and plasmidic AmpC beta-lactamase-producing *Escherichia coli* from poultry in Tunisia. *Int J Food Microbiol* [Internet]. 2016 Aug 16 [cited 2018 Feb 21];231:69–75.
43. Abreu R, Castro B, Espigares E, Rodriguez CA, Leucona M, Moreno E, *et al*. Prevalence of CTX-M-Type Extended-Spectrum β -Lactamases in *Escherichia coli* Strains Isolated in Poultry Farms. *Foodborne Pathog Dis* [Internet]. 2014, 11(11): 868-873.
44. Yamatogi RS, Oliveira HC, Camargo CH, Fernandes SA, Hernandez RT, Pinto JP, *et al*. Clonal relatedness and resistance patterns of *Salmonella* Corvallis from poultry carcasses in a Brazilian slaughterhouse. *J Infect Dev Ctries*. 2015;9(10):1161–5.
45. Prachantasena S, Charununtakorn P, Muangnoicharoen S, Hankla L, Techawal N, Chaveerach P, *et al*. Distribution and genetic profiles of *Campylobacter* in commercial broiler production from breeder to slaughter in Thailand. *PLoS One*. 2016; 11(2):1–16.
46. Estrada-Garcia T, Lopez-Saucedo C, Zamarripa-Ayala B, Thompson MR, Gutierrez-Cogco L, Mancera-Martinez A, *et al*. Prevalence of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. in street-vended food of open markets (tianguis) and general hygienic and trading practices in Mexico City. *Epidemiol Infect*. 2004;132(6):1181–4.

47. Brtková A, Bujdánková H. Antibiotic resistance in *Enterococcus* isolates from poultry swabs in Slovakia. *J Food Nutr Res*. 2009;48(3):121–8.
48. Blanc V, Mesa R, Saco M, Lavilla S, Prats G, Miró E, *et al.* ESBL- and plasmidic class C β -lactamase-producing *E. coli* strains isolated from poultry, pig and rabbit farms. *Vet Microbiol*. 2006;118(3–4):299–304.
49. Tschudin-sutter AS, Frei R, Dvm RS, Nogarth D, Widmer AF, Tschudin-sutter S, *et al.* Extended-Spectrum β -Lactamase (ESBL)– Producing *Enterobacteriaceae* : A Threat from the Kitchen Published by : Cambridge University Press on behalf of The Society for Healthcare Epidemiology of America Stable URL : <http://www.jstor.org/stable/10.1086/675>. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2016; 35(5):581–4.
50. Machado E, Coque TM, Cantón R, Sousa JC, Peixe L. Antibiotic resistance integrons and extended-spectrum β -lactamases among *Enterobacteriaceae* isolates recovered from chickens and swine in Portugal. *J Antimicrob Chemother*. 2008; 62(2):296–302.
51. Lu J, Idris U, Harmon B, Maurer JJ, Lee MD, Hofacre C. Diversity and Succession of the Intestinal Bacterial Community of the Maturing Broiler Chicken Diversity and Succession of the Intestinal Bacterial Community of the Maturing Broiler Chicken. *Appl Environ Microbiol*. 2003;69(11):6816–24.
52. Belmar Campos C, Fenner I, Wiese N, Lensing C, Christner M, Rohde H, *et al.* Prevalence and genotypes of extended spectrum beta-lactamases in *Enterobacteriaceae* isolated from human stool and chicken meat in Hamburg, Germany. *Int J Med Microbiol [Internet]*. 2014;304(5–6):678–84.

53. Awad A, Arafat N, Elhadidy M. Genetic elements associated with antimicrobial resistance among avian pathogenic *Escherichia coli*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* [Internet]. 2016; 15(1):59.
54. Baron S, Jouy E, Larvor E, Eono F, Bougeard S, Kempf I. Impact of third-generation-cephalosporin administration in hatcheries on fecal *Escherichia coli* antimicrobial resistance in broilers and layers. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014; 58(9):5428–34.
55. Babot JD, Arga E, Lorenzo-pisarello J, Apella C, Chaia AP. Cytotoxic damage of soybean agglutinin on intestinal epithelial cells of broiler chicks: in vitro protection by *Bifidobacterium infantis* CRL1395. *Femsle* 2016; 363(12):1–7.
56. Dierikx C, van der Goot J, Fabri T, van Essen-Zandbergen A, Smith H, Mevius D. Extended-spectrum- β -lactamase- and AmpC- β -lactamase-producing *Escherichia coli* in Dutch broilers and broiler farmers. *J Antimicrob Chemother*. 2013; 68(1):60–7.
57. Carmo LP, Nielsen LR, da Costa PM, Alban L. Exposure assessment of extended-spectrum beta-lactamases/AmpC beta-lactamases-producing *Escherichia coli* in meat in Denmark. *Infect Ecol Epidemiol* [Internet]. 2014;4(1):22924.
58. Nilsson O, Börjesson S, Landén A, Bengtsson B. Vertical transmission of *Escherichia coli* carrying plasmid-mediated AmpC (pAmpC) through the broiler production pyramid. *J Antimicrob Chemother*. 2014;69(6):1497–500.
59. Projahn M, Daehre K, Semmler T, Guenther S, Roesler U, Friese A. Environmental adaptation and vertical dissemination of ESBL-/pAmpC-producing

Escherichia coli in an integrated broiler production chain in the absence of an antibiotic treatment. 2017.

60. Silva-Sánchez J, Cruz-Trujillo E, Barrios H, Reyna-Flores F, Sánchez-Pérez A, Garza-Ramos U, *et al.* Characterization of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance (PMQR) Genes in Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* Pediatric Clinical Isolates in Mexico. PLoS One. 2013; 8(10).
61. Garza-Ramos U, Martínez-Romero E, Silva-Sánchez J. SHV-type extended-spectrum β -lactamase (ESBL) are encoded in related plasmids from enterobacteria clinical isolates from Mexico. Salud Publica Mex. 2007; 49(6):415–21.
62. Barrios H, Garza-Ramos U, Mejía-Miranda I, Reyna-Flores F, Sánchez-Pérez A, Mosqueda-García D, *et al.* ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: The most prevalent clinical isolates obtained between 2005 and 2012 in Mexico. J Glob Antimicrob Resist. 2017; 10:243–6.
63. Morfín-Otero R, Mendoza-Olazarán S, Silva-Sánchez J, Rodríguez-Noriega E, Laca-Díaz J, Tinoco-Carrillo P, *et al.* Characterization of *Enterobacteriaceae* Isolates Obtained from a Tertiary Care Hospital in Mexico, Which Produces Extended-Spectrum β -Lactamase. Microb Drug Resist [Internet]. 2013;19(5):378–83.
64. Merida-Vieyra J, De Colsa A, Castañeda YC, Barbosa PA, Andrade AA. First report of group CTX-M-9 extended spectrum beta-lactamases *in Escherichia coli* isolates from pediatric patients in Mexico. PLoS One. 2016; 11(12):1–12.
65. Aguilar-Montes de Oca S, Talavera-Rojas M, Soriano-Vargas E, Barba-León J, Vázquez-Navarrete J, Acosta-Dibarrat J, *et al.* Phenotypic and genotypic profile

- of clinical and animal multidrug-resistant *Salmonella enterica* isolates from Mexico. J Appl Microbiol [Internet]. 2018;124(1):67–74.
66. Zaidi MB, Leon V, Canche C, Perez C, Zhao S, Hubert SK, *et al.* Rapid and widespread dissemination of multidrug-resistant blaCMY-2 *Salmonella Typhimurium* in Mexico. J Antimicrob Chemother. 2007; 60(2):398–401.
67. Llor C, Moragas A, Cots JM, López-Valcárcel BG. Ahorro estimado de antibióticos prescritos en faringitis e infecciones del tracto respiratorio inferior si los médicos de atención primaria usaran pruebas rápidas y siguieran las guías de práctica clínica. Aten Primaria [Internet]. 2017; 49(6):319–25.
68. Amábile-Cuevas CF. Antibiotic resistance in Mexico: A brief overview of the current status and its causes. J Infect Dev Ctries [Internet]. 2010; 4(3):126–31.
69. Dreser A, Wirtz VJ, Corbett KK, Echániz G. Uso de antibióticos en México: revisión de problemas y políticas. Salud Pública Mex [Internet]. 2008; 50(4):S480.