

COMUNICACIÓN BREVE / SHORT COMMUNICATION

RESISTENCIA A TETRACICLINAS EN *Escherichia coli* AISLADA DE AGUAS SUPERFICIALES Y RESIDUALES DE TAMAULIPAS, MÉXICO

Tetracycline resistance in *Escherichia coli* isolated from surface and wastewater from Tamaulipas, Mexico

Jessica Lizbeth ORTEGA-BALLEZA¹, Rocío REQUENA-CASTRO¹,
María Antonia CRUZ-HERNÁNDEZ¹, Ana Verónica MARTÍNEZ-VÁZQUEZ¹,
Graciela CASTRO-ESCARPULLI² y Virgilio BOCANEGRA-GARCÍA^{1*}

¹ Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional, Boulevard del Maestro s/n esq. Elías Piña, Colonia Narciso Mendoza, 88710 Reynosa, Tamaulipas, México.

² Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, 11340 Ciudad de México, México.

*Autor para correspondencia: vbocanegra@ipn.mx

(Recibido: julio de 2021; aceptado: marzo de 2023)

Palabras clave: Ambientes acuáticos, *intI*, *tet*, conjugación, riesgo sanitario.

RESUMEN

La resistencia a los antibióticos representa una amenaza para la salud mundial que incrementa la morbilidad y mortalidad de la población. El uso excesivo e indiscriminado de antibióticos ha conducido a la aparición y propagación de bacterias resistentes. Las tetraciclinas han sido uno de los antibióticos más utilizados por su amplio espectro y bajo costo, y son frecuentemente detectados en ambientes acuáticos por su baja movilidad y persistencia. El objetivo de este trabajo fue evaluar la resistencia a tetraciclinas en aislados de *Escherichia coli* de aguas superficiales y aguas residuales en el noreste de Tamaulipas, México. Se analizaron 50 aislados de *E. coli*, de los cuales el 54 % fue resistente a tetraciclina; de este porcentaje, 16 y 26 % fueron resistentes a doxiciclina y minociclina, respectivamente. También se identificó resistencia a estreptomina, ampicilina y trimetoprim-sulfametoxazol. De los genes *tet*, el más prevalente fue *tet(A)* en 74 %, mientras que *intI* se detectó en 22 % ($p > 0.05$). En el ensayo de conjugación plasmídica, 41 % de los aislados de *E. coli* transfirieron la resistencia a tetraciclina. Sólo *tet(A)* se transfirió a las receptoras en 81 %, en tanto que *intI* en 27 %. Cinco replicones plasmídicos fueron identificados en las transconjugantes. Los aislados de *E. coli* obtenidos de aguas superficiales y residuales del noreste de Tamaulipas representan un riesgo sanitario y ambiental, ya que tienen el potencial de transferir los genes de resistencia, no sólo en el medio acuático sino también a otros ambientes y comunidades bacterianas.

Keywords: aquatic environments, *intI*, *tet*, conjugation, public health risk.

ABSTRACT

Antibiotic resistance represents a threat to global health that increases morbidity and mortality in the population. The excessive and indiscriminate use of antibiotics has led to the emergence and spread of resistant bacteria. Tetracyclines have been one of the most widely used antibiotics because of their broad spectrum and low cost; they

are frequently found in aquatic environments because of their low mobility and persistence in such sources. Therefore, the aim of this work was to evaluate tetracycline resistance in *Escherichia coli* strains isolated from surface water and wastewater in northeastern Tamaulipas, Mexico. In this study, 50 strains of *E. coli* were analyzed. Susceptibility testing showed that 54% of *E. coli* strains were resistant to tetracycline, of which 16 and 26% were resistant to minocycline and doxycycline, respectively. Resistance to streptomycin, ampicillin, and sulfamethoxazole-trimethoprim was also identified. Regarding the *tet* genes, *tet(A)* was the most prevalent at 74 %, while *intI* was found at 22 % ($p > 0.05$). In the conjugation assay, 41 % (11/25) of *E. coli* strains showed potential to transfer resistance to tetracycline, and only *tet(A)* was transferred to the recipients in 81 %, while *intI* was transferred in 27 %. Finally, *E. coli* strains isolated on the surface and wastewater of northeastern Tamaulipas represent a health and environmental risk because of the potential to spread their resistance in the aquatic environment and other environments and bacterial communities.

INTRODUCCIÓN

La resistencia bacteriana a los antibióticos es un problema de salud pública importante debido a que incrementa la morbilidad y mortalidad de la población, así como los costos de atención médica (Zahid et al. 2017). El aumento de bacterias resistentes a los antibióticos representa una amenaza para la salud mundial. En 2019, este problema estuvo asociado a aproximadamente 4.95 millones de muertes a nivel global (Murray et al. 2022).

Una de las bacterias consideradas de importancia crítica desde 2017 por la Organización Mundial de la Salud (OMS) es *Escherichia coli* (Havenga et al. 2019), ya que es una de las más prevalentes tanto en el tracto gastrointestinal de humanos y animales como en el ambiente. Su plasticidad genómica le permite ser una receptora eficaz de material genético externo, lo que la convierte en importante diseminadora de resistencia, por lo que suele utilizarse para monitorear la resistencia a antibióticos en el ambiente (Nekouei et al. 2018, Devanga et al. 2019).

Por otra parte, desde su introducción en el mercado las tetraciclinas han estado entre los antibióticos más utilizados en humanos, animales y agricultura por su amplio espectro y bajo costo (Thaker et al. 2010, Roberts y Schwarz 2016). Esta familia de antibióticos se ha clasificado entre los antibióticos más frecuentemente detectados en aguas residuales, superficiales y subterráneas por su baja movilidad y persistencia en tales fuentes (Wellington et al. 2013, Javid et al. 2016).

La resistencia a las tetraciclinas puede ser extrínseca e intrínseca, esta última a través de la adquisición de los genes *tet*, los cuales están implicados en tres mecanismos de resistencia: bombas de eflujo, protección ribosomal e inactivación enzimática (Belaynehe

et al. 2018). Estos genes se han propagado a través de transferencia horizontal de elementos genéticos móviles (EGM) como plásmidos, transposones e integrones, principalmente por conjugación plasmídica, y pueden coseleccionar resistencia a otros antibióticos (Shin et al. 2015). A menudo se han localizado en EGM que albergan genes de resistencia a otros antibióticos (Nekouei et al. 2018).

Antibióticos como las tetraciclinas se caracterizan por ser escasamente metabolizados y son excretados en heces u orina hacia el ambiente (Kyselková et al. 2013), donde pueden alcanzar aguas superficiales y contribuir a la aparición, evolución y propagación de la resistencia a antimicrobianos (Delgado-Blas et al. 2021). En este contexto, los ambientes acuáticos generan gran interés en el ámbito sanitario debido a que son importantes fuentes de microorganismos como bacterias multirresistentes, y además están sometidos a contaminación antrópica con antibióticos de manera directa (Magaña-Lizárraga et al. 2022).

En el norte de Tamaulipas la fuente hídrica de mayor relevancia es el Río Bravo, que supera los estándares de contaminación fecal y toxicidad química establecidos por la Agencia de Protección Ambiental estadounidense (USEPA, por sus siglas en inglés). Dicha situación genera preocupación debido a que las aguas de este río son empleadas para fines de consumo, riego y recreativos en la región fronteriza de México y EUA, incrementando el riesgo de infecciones difíciles de tratar (Fuentes et al. 2019). En la región noreste de Tamaulipas, la información sobre la propagación de resistencia a antibióticos en ambientes acuáticos es limitada. Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar la resistencia a tetraciclinas en *E. coli* aislada de agua superficiales y residuales en el noreste de Tamaulipas, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislados bacterianos

Se analizaron 50 aislados de *E. coli* procedentes del banco de cepas del Laboratorio Interacción Ambiente-Microorganismo del Centro de Biotecnología Genómica del IPN, los cuales se aislaron de agua procedente del Río Bravo, así como canales de riego, drenes y alcantarillas de la ciudad de Reynosa, Tamaulipas. Previamente se les sometió a identificación fenotípica mediante pruebas bioquímicas convencionales (lactosa, indol, rojo de metilo, Voges-Proskauer, citrato de Simmons, urea de Christensen y H₂S), así como a identificación de su filogrupa (A, B2, B2 o D).

Análisis de sensibilidad fenotípica

Las bacterias fueron reactivadas en medio triptica-sa de soya (TSA, por sus siglas en inglés) para cultivo en placas (MCD LAB), posteriormente se cultivaron en medio selectivo eosina azul de metileno (EMB por sus siglas en inglés) en placas (MCD LAB) para confirmar su pureza. En seguida se realizó el análisis de susceptibilidad a agentes quimioterapéuticos por el método de difusión en disco para tetraciclina (TET), doxiciclina (DOX) y minociclina (MIN) en disco (BD BBL Sensi-Disc, Becton, Dickinson and Company, EUA) siguiendo los parámetros indicados en el documento M100 (CLSI 2018). *E. coli* ATCC 25922 se empleó como cepa de referencia.

Adicionalmente, se determinó la sensibilidad a agentes diferentes a las tetraciclinas, que incluyeron ampicilina (10 µg), ciprofloxacina (5 µg), sulfametoxazol-trimetoprim (25 µg), levofloxacina (5 µg), estreptomycin (30 µg), gentamicina (10 µg), cefepime (FEP, 30 µg), cefotaxima (30 µg), amikacina (30 µg) y cloranfenicol (30 µg) en disco (BD BBL Sensi-Disc, Becton, Dickinson and Company, EUA).

Extracción de ADN bacteriano

La extracción de ADN se llevó a cabo por el método de lisis térmica (Mehrez et al. 2009, Vázquez-López et al. 2018), para lo cual se tomaron varias asadas de cada cultivo de 18 h crecido en medio TSA y fueron colocados en 500 µL de agua libre de nucleasas. Esta mezcla fue incubada a 95 °C durante 15 min. Posteriormente se centrifugó durante cinco minutos a 12 000 rpm y el sobrenadante (ADN) se colocó en microtubos que fueron mantenidos a -20 °C hasta su uso.

Detección de genes

La amplificación de los genes *tet* se realizó por reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por su

sigla en inglés) de punto final a volumen final de 15 µL. Los iniciadores, así como las condiciones de la mezcla de reacción y amplificación se realizaron de acuerdo con lo reportado por Ng et al. (2001). La reacción se realizó en un termociclador MultiGene OptiMax. Los productos de PCR se sometieron a electroforesis en gel de agarosa al 1.5 % on SYBR Gold a 90 V por 45 min empleando marcador HyperLadder 100 pares base (pb). Como cepas control se utilizaron *Enterococcus faecium* ATCC 19433 y *Enterococcus faecalis*, así como un control negativo en el cual se añadió agua mili-Q estéril. Los amplicones esperados presentaban un tamaño de 210 pb, 659 pb, 418 pb, 406 pb y 468 pb para *tet(A)*, *tet(B)*, *tet(C)*, *tet(M)* y *tet(X)*, respectivamente.

Para la detección del gen *intI*, cada PCR se realizó a un volumen final de 15 µL y concentración final de buffer 5X GoTaq Flexi (Promega, EUA), MgCl₂ 2.7 mM, dNTPs 400 µM Mm (Promega, EUA), iniciadores 0.5 µM y agua libre de nucleasas. Se utilizaron los iniciadores reportados por Liu et al. (2013). La PCR se llevó a cabo en el termociclador MultiGene OptiMax. Los productos de PCR se sometieron a electroforesis en gel de agarosa al 1.5 % a 90 V por 45 min con SYBR Gold a 90 V por 45 min empleando marcador HyperLadder^M 100 pb. Se esperaba un fragmento de 484 pb.

Ensayo de conjugación plasmídica

Para los ensayos de conjugación plasmídica se siguió el protocolo de Koo y Woo (2011) y Shin et al. (2015). Los aislados de *E. coli* resistente a tetraciclina se utilizaron como bacteria donadora y *E. coli* J53 azida resistente (ATCC BAA2730) como receptora. Ambas bacterias fueron cultivadas en caldo Luria Bertani (LB) en tubo (CONDALAB) a 37 °C toda la noche. Se realizó una mezcla con las dos bacterias en un factor de dilución 1:3 y se incubaron hasta la fase logarítmica. Después, una alícuota de 100 µL fue dispersada en placas de TSA suplementado con tetraciclina (10 µg/mL) y azida sódica (200 µg/mL) y se incubaron a 37 °C por 24 h. Como control de calidad, las bacterias donantes y receptoras se cultivaron por separado en placas TSA suplementadas con tetraciclina (10 mg/L) y azida sódica (200 mg/L). A las transconjugantes de las placas que presentaron crecimiento se les realizó una PCR de los genes *tet* para verificar que habían adquirido dichos genes.

Tipificación del replicón plasmídico

Se identificaron los grupos de incompatibilidad plasmídica mediante tipificación de plásmidos basada en replicones (PBRT, *plasmid based replicon typing*),

siguiendo las condiciones de reacción y amplificación reportadas por Carattoli et al. (2005) y Villa et al. (2010). La PBRT se basa en la realización de cinco PCR multiplex que amplifican tres replicones cada una y nueve PCR simples.

Análisis estadístico

La asociación entre la presencia de genes *tet* e *intI* se realizó mediante la prueba exacta de Fisher utilizando el programa IBM SPSS Statistics, v. 24 (SPSS, Chicago, IL). Un valor de $p < 0.05$ fue considerado como estadísticamente significativo.

RESULTADOS

Análisis de sensibilidad fenotípica

Un total de 54 % (27/50) de aislados de *E. coli* fueron resistentes a tetraciclina, 16 % (8/50) a minociclina y 26 % (13/50) a doxiciclina. Los resultados por fuente se muestran en el **cuadro I**. Asimismo, entre los aislados resistentes a tetraciclina se observó la presencia de resistencia conjunta a tetraciclina, minociclina y doxiciclina en 22 % (6/27), a tetraciclina y minociclina en 7 % (2/27) y a tetraciclina y doxiciclina en 26 % (7/27).

Respecto a los otros antibióticos evaluados, en total se observó resistencia a ampicilina (52 %), estreptomocina (55 %) y trimetoprim-sulfametoxazol (44 %) (**Cuadro II**). Además, es relevante la resistencia a ciprofloxacino (26 %, 7/27) y levofloxacino (18 %, 5/27), detectada principalmente en aguas residuales.

Asimismo, se observó resistencia a más de una familia de antibióticos, en promedio a dos familias y como máximo a seis. Fue común detectar resistencia conjunta a sulfametoxazol, ampicilina, estreptomocina y tetraciclina.

Por otro lado, es destacable que 48 % (13/27) de los aislados de *E. coli* resistente evaluados pertenecen al filogrupa A (comensales), 33 % (9/27) al filogrupa D, 11 % (3/27) al filogrupa B2 y 7 % (2/27) al filogrupa B1 (**Fig. 1**).

Detección de genes *tet* e *intI*

Respecto a los genes *tet*, el más frecuente en todas los aislados fue *tet(A)*, el cual se detectó en 74 % (20/27), seguido por *tet(B)* con 18 % (5/27), *tet(M)* 4 % (1/27) y *tet(C)* 4 % (1/27); *tet(X)* no fue detectado (**Cuadro III, Fig. 2**). La presencia de múltiples genes *tet* en un mismo aislado también fue detectada, encontrándose que *tet(A)*, *tet(B)* y *tet(M)* se presentaron en 4 % (1/27), *tet(A)* y *tet(B)* en 7 % (2/27).

CUADRO I. RESISTENCIA FENOTÍPICA A TETRACICLINAS POR FUENTE.

Origen	n	Tetraciclina (%)	Minociclina (%)	Doxiciclina (%)
Agua superficial	25	15 (60)	6 (24)	6 (24)
Agua residual	25	12 (48)	2 (8)	7 (28)
TOTAL	50	27 (54)	8 (16)	13 (26)

CUADRO II. RESISTENCIA FENOTÍPICA A OTROS ANTIBIÓTICOS EN *Escherichia coli* DE AGUAS SUPERFICIALES Y RESIDUALES.

Antibiótico	Resistencia fenotípica (n = 27)		Total (%)
	Superficial (15)	Residual (12)	
Estreptomocina	8	7	15 (55)
Ciprofloxacino	1	6	7 (26)
Levofloxacino	1	4	5 (18)
Cefepime	0	1	1 (4)
Gentamicina	3	0	3 (11)
Trimetoprim-sulfametoxazol	7	5	12 (44)
Amikacina	1	0	1 (4)
Ampicilina	8	6	14 (52)
Cloranfenicol	4	4	8 (30)

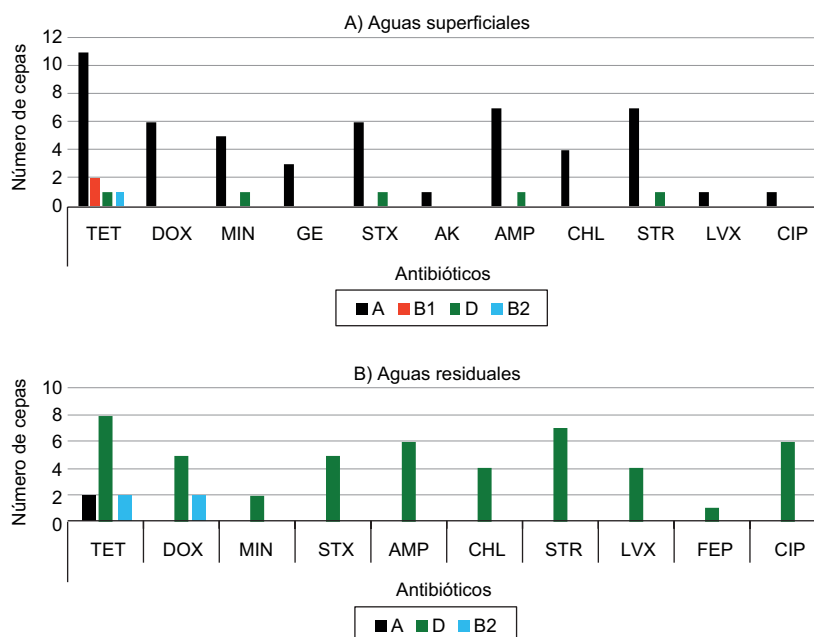


Fig. 1. Distribución de *Escherichia coli* de acuerdo con filogrupos y resistencia fenotípica. (a) Distribución en aguas superficiales; (b) distribución en aguas residuales. TET: tetraciclina; DOX: doxiciclina; MIN: minociclina; STX: trimetoprim-sulfametoxazol; AMP: ampicilina; CHL: cloranfenicol; STR: estreptomina; LVX: levofloxacino; FEP: cefepime; CIP: ciprofloxacino.

CUADRO III. DISTRIBUCIÓN DE LOS GENES TET E INT1 DETECTADOS EN *Escherichia coli*.

Origen	Genes tet (n)					int1
	tet(A)	tet(B)	tet(C)	tet(M)	tet(X)	
Superficial	10	2	1	1	0	3
Residual	10	3	0	0	0	3
TOTAL	20	5	1	1	0	6

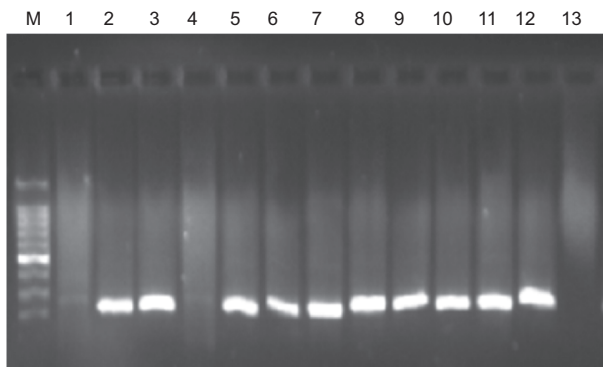


Fig. 2. Gel representativo del amplicón de tet(A) (210 pb). Gel de agarosa al 1.5% con SYBR Gold, 90 V por 45 min. M: marcador HyperLadder 100 pb (carriles 1-11, aislados de *Escherichia coli* de aguas superficiales; carril 12, control positivo; carril 13, control negativo).

Adicionalmente, el gen *intI* se presentó en 22 % (6/27) de los aislados (**Fig. 3**). Con relación a los análisis estadísticos, éstos no mostraron diferencia significativa entre *tet* e *intI* ($p > 0.05$).

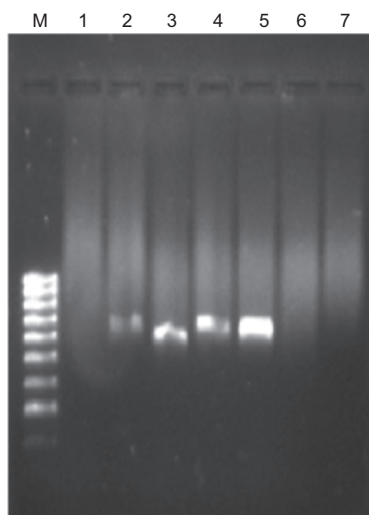


Fig. 3. Gel representativo del amplicón de *intI* (484 pb). Gel de agarosa 1.5 %. M: marcador 100 pb (carril 1, control negativo; carril 2, control positivo; carriles 3-7, aislados de *Escherichia coli* de aguas superficiales).

Conjugación plasmídica

El ensayo de conjugación bacteriana mostró que el 41 % (11/27) de aislados de *E. coli* resistente a tetraciclina tienen el potencial de transferir resistencia al grupo de las tetraciclinas (**Fig. 4**), lo cual se presentó principalmente en *E. coli* aislada de aguas

superficiales del Río Bravo (81 %, 9/11). Asimismo, tras confirmar los genes *tet* transferidos, sólo *tet(A)* fue transferido a la cepa receptora en 81 % (9/11) y 72.7 % (8/11) en *E. coli* aisladas de agua superficiales, en tanto que la presencia de *intI* se demostró en las transconjugantes en 27 % (3/11).

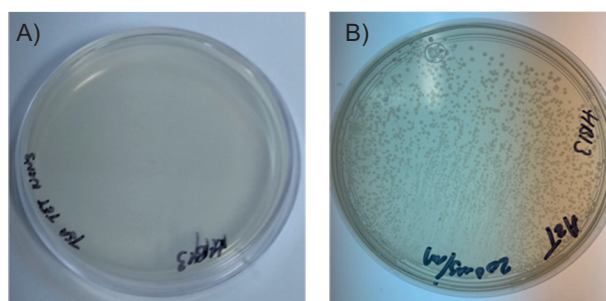


Fig. 4. Conjugación plasmídica. (a) control negativo de *Escherichia coli* resistente a tetraciclina (sin conugar) crecida en medio tripticasa de soya suplementado con tetraciclina (10 µg/mL) y con azida sódica (200 µg/mL). (b) Transconjugante crecida en medio soya tripticasa, suplementado con tetraciclina (10 µg/mL) y con azida sódica (200 µg/mL).

Tipificación del replicón plasmídico

De los 11 aislados que mostraron conjugación exitosa, sólo en cinco se caracterizaron replicones plasmídicos, entre los que se encuentra el grupo IncF (FIB, FIA y FII), IncP, IncW, Inc K/B e IncI (**Cuadro IV**). Los cinco aislados mostraron más de un replicón (en promedio tres).

CUADRO IV. GENES TRANSFERIDOS DE LOS AISLADOS DE *Escherichia coli* RESISTENTE A TETRACICLINAS (DONADORA) A LA RECEPTORA (*Escherichia coli* J53).

Aislados	Origen	Donadoras		Transconjugantes	
		Perfil de resistencia fenotípico	Filogrupo	Replicón transferido	Genes transferidos
3AS	Agua (superficial)	TET DOX GE STX CHL STR	B1	FIA FIB FII	tet(A) intI
15AS	Agua (superficial)	TET STX AMP	A	FIB P K/B	tet(A)
23AS	Agua (superficial)	TET	A	I1 P FII	tet(A) intI
63AS	Agua (superficial)	TET	B2	I1 FIB FII	tet(A) intI
5AR	Agua (residual)	TET MIN DOX	D	I1 FIB W	tet(A)
1AS	Agua (superficial)	TET MIN DOX AK AMP STR	A	ND	ND
9AS	Agua (superficial)	TET MIN STX AMP STR	D	ND	tet(A)
10AS	Agua (superficial)	TET STX AMP CHL	A	ND	tet(A)
11AS	Agua (superficial)	TET STX AMP CHL STR	A	ND	tet(A)
21AS	Agua (superficial)	TET MIN GE STR	A	ND	tet(A)
26AR	Agua (residual)	TET DOX CHL STR LVX CIP	D	ND	ND

ND: no detectado; TET: tetraciclina; DOX: doxiciclina; GE: gentamicina; STX: trimetoprim-sulfametoxazol; STR: estreptomicina; AMP: ampicilina; MIN: minociclina; AK: amikacina; CHL: cloranfenicol; LVX: levofloxacino.

DISCUSIÓN

Las tetraciclinas, que actualmente son consideradas parte de los contaminantes emergentes (Robledo-Zacarias et al. 2017), son antibióticos que siguen teniendo relevancia terapéutica contra una gama amplia de bacterias que incluyen grampositivas y gramnegativas, micoplasmas, clamidias y rickettsias, así como otros microorganismos como parásitos protozoarios (Scaria et al. 2021).

La resistencia a tetraciclinas de primera y segunda generación está ampliamente extendida no sólo en bacterias de interés clínico sino también de origen ambiental, ya que tales antibióticos poseen uno de los resistomas más grandes (al-Bahry et al. 2016).

En el presente estudio, del grupo de las tetraciclinas, se identificó resistencia a tetraciclina, minociclina y doxiciclina. La resistencia a esta última es preocupante debido a que forma parte de la lista de medicamentos esenciales (WHO 2019), cuyo uso terapéutico abarca humanos y animales.

En los aislados de *E. coli* de aguas del Río Bravo, el gen *tet(A)* fue el más frecuente. Dichos resultados son similares a los reportados previamente a partir de diferentes fuentes ambientales (Shin et al. 2015, Belaynehe et al. 2018, Perewari et al. 2022), por lo que es posible que en los entornos acuáticos donde se recuperaron las bacterias evaluadas en este trabajo persista una presión selectiva constante que contribuye a mantener este gen entre las comunidades bacterianas, además de que los EGM que albergan a los genes *tet* a menudo seleccionan otros genes de resistencia (coselección), lo cual ha contribuido en gran medida al incremento de cepas de *E. coli* con multiresistencia (MDR) a antibióticos (Shin et al. 2015). Previamente, en el Río Bravo se detectaron antibióticos como azitromicina, ciprofloxacina, doxiciclina, eritromicina, sulfametoxazol, tetraciclina y trimetoprim en sedimentos y agua, así como bacterias con MDR y la presencia de integrones 1 y 2 (Fuentes et al. 2019).

Además de la resistencia a tetraciclinas, en este trabajo los aislados de *E. coli* también exhibieron resistencia a otros antibióticos, principalmente a estreptomina, ampicilina y sulfametoxazol, lo cual es congruente con los hallazgos de Fuentes et al. (2019).

Es destacable que la mayoría de los aislados resistentes a tetraciclina pertenecía al filogrupa A, al que pertenecen de *E. coli* comensal (Bhowmik et al. 2022); además, la mayor parte de dichas bacterias mostraron resistencia a dos o más antibióticos, lo cual muestra la importancia de estudiar no solo a las bacterias patógenas sino también a las comensales.

En el mismo contexto, es preocupante la resistencia fenotípica a miembros de las quinolonas como ciprofloxacino y levofloxacino, antibióticos de importancia crítica, ya que son de los más eficaces en la actualidad tanto en humanos como animales (Astorga et al. 2019).

Por otra parte, el gen *intI* está ampliamente disseminado en la familia de los Enterobacterales y bacterias de interés clínico gramnegativas, y desempeña un papel importante en la evolución y diseminación de resistencia (Deng et al. 2015, Gillings 2017). Estos EGM suelen albergar genes que codifican para la resistencia a β -lactámicos, aminoglucósidos, tetraciclina, trimetoprim, cloranfenicol, quinolonas, eritromicina y compuestos cuaternarios de amonio (Kaushik et al. 2018). En este estudio, *intI* se detectó en 22 % de los aislados, por lo que es posible que el resto los genes *tet* detectados en este trabajo estén presentes en otros EGM. Además, los resultados obtenidos en la presente investigación son comparables con lo reportado por Odetoyn et al. (2017), Belaynehe et al. (2018) y Kaushik et al. (2019).

Además, en el presente estudio sólo el 44 % de *E. coli* tuvo la capacidad de transferir la resistencia a tetraciclinas mediante conjugación, y fueron identificados siete replicones plasmídicos en las transconjugantes, destacando el grupo de incompatibilidad IncF. Los replicones de este grupo se caracterizan por codificar múltiples replicones (Rozwandowicz et al. 2018), por estar limitados a los Enterobacterales y por estar presentes en bajo número de copias, generalmente con tamaño mayor a 100 kb (Villa et al. 2010). Son de los más prevalentes alrededor del mundo en diferentes fuentes y se relacionan con resistencia a antibióticos (Partridge et al. 2018). Respecto a las transconjugantes en que no se identificó ningún replicón plasmídico, podrían albergar plásmidos que no estaban en el panel evaluado (Poole et al. 2017).

Cabe señalar que la tasa de transferencia por conjugación obedece a diferentes factores entre los que destaca la presión selectiva a la que han estado expuestas las bacterias en su entorno. Asimismo, la capacidad de transferencia en la naturaleza puede no reflejarse igualmente en los estudios de conjugación en condiciones de laboratorio (Poole et al. 2017).

La presencia de más de un plásmido conjugativo representa un costo metabólico adicional para la bacteria anfitriona. Igualmente, el proceso de conjugación por sí mismo hace sensible a la bacteria al ataque de fagos, ya que los pili conjugativos sirven como receptores para éstos (Gama et al. 2017). Asimismo, en algunos plásmidos, los genes involucrados en la transferencia de material genético suelen estar

reprimidos y la eficiencia de conjugación se reduce (Frost y Koraimann 2010). Cabe destacar que el presente trabajo es el primero que evalúa la transferencia de genes de resistencia en Tamaulipas.

Los hallazgos aquí reportados ponen de manifiesto la capacidad de propagación de determinantes de resistencia a antibióticos en aislados de *E. coli* que en su mayoría pertenecen al filogruppo de las comensales (A). Éstas pueden convertirse en importantes reservorios silenciosos de genes de resistencia y propagarlos a bacterias patógenas; en consecuencia, provocar infecciones graves y difíciles de tratar tanto en humanos como en animales.

CONCLUSIONES

Los aislados de *E. coli* procedentes de aguas superficiales y residuales de Tamaulipas representan un riesgo sanitario y ambiental, ya que tienen el potencial de propagar la resistencia a tetraciclinas y a múltiples antibióticos mediante coselección, por lo que podrían transferir su resistencia a otras comunidades bacterianas no sólo en el medio acuático sino también en ambientes relacionados. Por lo anterior, es de vital importancia establecer estrategias de vigilancia a mayor escala enfocadas a reducir la propagación de la resistencia a antibióticos en el ambiente, así como evaluar la virulencia de éstas y las presiones selectivas que influyen en su dispersión a otros entornos y comunidades bacterianas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado en parte por el proyecto SIP 20222002 del Instituto Politécnico Nacional.

REFERENCIAS

- Al-Bahry S., al-Sharji N., Yaish M., al-Musharafi S. y Mahmoud I. (2016). Diversity of tetracycline resistant genes in *Escherichia coli* from human and environmental sources. *The Open Biotechnology Journal* 10 (1), 289-300. <https://doi.org/10.2174/1874070701610010289>
- Astorga F., Navarrete-Talloni M.J., Miró M.P., Bravo V., Toro M., Blondel C.J. y Hervé-Claude L.P. (2019). Antimicrobial resistance in *E. coli* isolated from dairy calves and bedding material. *Heliyon* 5 (11), e02773. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02773>
- Belaynehe K.M., Shin S.W. y Yoo H.S. (2018). Interrelationship between tetracycline resistance determinants, phylogenetic group affiliation and carriage of class 1 integrons in commensal *Escherichia coli* isolates from cattle farms. *BMC Veterinary Research* 14 (1), 1-11. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1661-3>
- Bhowmik A., Goswami S., Sirajee A.S. y Ahsan S. (2022). Phylotyping, pathotyping and phenotypic characteristics of *Escherichia coli* isolated from various street foods in Bangladesh. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* 12 (2), e4619. <https://doi.org/10.55251/jmbfs.4619>
- Carattoli A., Bertini A., Villa L., Falbo V., Hopkins K.L. y Threlfall E.J. (2005). Identification of plasmids by PCR-based replicon typing. *Journal of Microbiological Methods* 63 (3), 219-228. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2005.03.018>
- CLSI (2018). CLSI M100. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 28th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa, EUA, 33 pp.
- Delgado-Blas J.F., Ovejero C.M., David S., Montero N., Calero-Cáceres W., Garcillan-Barcia M.P. y González-Zorn B. (2021). Population genomics and antimicrobial resistance dynamics of *Escherichia coli* in wastewater and river environments. *Communications Biology* 4 (1), 1-13. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-01949-x>
- Deng Y., Bao X., Ji L., Chen L., Liu J., Miao J., Chen D., Bian H., Li Y. y Yu G. (2015). Resistance integrons: Class 1, 2 and 3 integrons. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 14 (1), 1-11. <https://doi.org/10.1186/s12941-015-0100-6>
- Devanga Ragupathi N.K., Muthurilandi Sethuvel D.P., Gajendran R., Anandan S., Walia K. y Veeraraghavan B. (2019). Horizontal transfer of antimicrobial resistance determinants among enteric pathogens through bacterial conjugation. *Current Microbiology* 76 (6), 666-672. <https://doi.org/10.1007/s00284-019-01676-x>
- Frost L.S. y Koraimann, G. (2010). Regulation of bacterial conjugation: Balancing opportunity with adversity. *Future Microbiology* 5, 1057-1071. <https://doi.org/10.2217/fmb.10.70>
- Fuentes M.D., Gutiérrez S., Sahagún D., Gómez J., Mendoza J., Ellis C.C., Bauer S., Blattner, J., Lee W.Y., Álvarez M. y Domínguez D.C. (2019). Assessment of antibiotic levels, multi-drug resistant bacteria and genetic biomarkers in the waters of the Rio Grande River between the United States-Mexico Border. *Journal of Health and Pollution* 9 (23). <https://doi.org/10.5696/2156-9614-9.23.190912>
- Gama J.A., Zilhao R. y Dionisio F. (2017). Conjugation efficiency depends on intra and intercellular interactions between distinct plasmids: plasmids promote the immigration of other plasmids but repress co-colonizing plasmids. *Plasmid* 93, 6-16. <https://doi.org/10.1016/j.plasmid.2017.08.003>

- Gillings M.R. (2017). Class 1 integrons as invasive species. *Current Opinion in Microbiology* 38, 10-5. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.03.002>
- Havenga B., Ndlovu T., Clements T., Reyneke B., Waso M. y Khan W. (2019). Exploring the antimicrobial resistance profiles of WHO critical priority list bacterial strains. *BMC Microbiology* 19 (1), 1-16. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1687-0>
- Javid A., Mesdaghinia A., Nasser S., Mahvi A.H., Alimohammadi M. y Gharibi H. (2016). Assessment of tetracycline contamination in surface and groundwater resources proximal to animal farming houses in Tehran, Iran. *Journal of Environmental Health Science and Engineering* 14 (1), 1-5. <https://doi.org/10.1186/s40201-016-0245-z>
- Kaushik M., Kumar S., Kapoor R.K., Viridi J.S. y Gulati P. (2018). Integrons in Enterobacteriaceae: Diversity, distribution and epidemiology. *International Journal of Antimicrobial Agents* 51 (2), 167-176. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.10.004>
- Kaushik M., Khare N., Kumar S. y Gulati P. (2019). High prevalence of antibiotic resistance and integrons in *Escherichia coli* isolated from urban river water, India. *Microbial Drug Resistance* 25 (3), 359-370. <https://doi.org/10.1089/mdr.2018.0194>
- Koo H. y Woo G. (2011). Distribution and transferability of tetracycline resistance determinants in *Escherichia coli* isolated from meat and meat products. *International Journal of Food Microbiology* 81 (16), 5560-5566. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.01.003>
- Kyselková M., Jirout J., Chroňáková A., Vrchotová N., Bradley R., Schmitt H. y Elhottová D. (2013). Cow excrements enhance the occurrence of tetracycline resistance genes in soil regardless of their oxytetracycline content. *Chemosphere* 93, 2413-2418. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.08.058>
- Liu L.T., Wan L.H., Song X.H., Xiong Y., Jin S.J. y Zhou, L.M. (2013). Relevance of class 1 integrons and extended-spectrum β -lactamases in drug-resistant *Escherichia coli*. *Molecular Medicine Reports* 8 (4), 1251-1255. <https://doi.org/10.3892/mmr.2013.1626>
- Magaña-Lizárraga J.A., Gómez-Gil B., Rendón-Maldonado J.G., Delgado-Vargas F., Vega-López I.F. y Báez-Flores M.E. (2022). Genomic profiling of antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolates from surface water of agricultural drainage in north-western Mexico: Detection of the international high-risk lineages ST410 and ST617. *Microorganisms* 10 (3), 662. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030662>
- Mehrez M.J., Abdulsamad M.A. y Hussein M.D. (2009). Heat treatment of bacteria: A simple method of DNA extraction for molecular techniques. *Kuwait Medical Journal* 41 (2), 117-122
- Murray C.J., Ikuta K.S., Sharara F., Swetschinski L., Aguilar G.R., Gray A. y Naghavi M. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: A systematic analysis. *The Lancet* 399 (10325), 629-655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
- Nekouei O., Checkley S., Waldner C., Smith B.A., Invik J., Carson C. y Gow S. (2018). Exposure to antimicrobial-resistant *Escherichia coli* through the consumption of ground beef in western Canada. *International Journal of Food Microbiology* 272, 41-48. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.02.022>
- Ng L., Martin I., Alfa M. y Mulvey M. (2001). Multiplex PCR for the detection of tetracycline resistant genes. *Molecular and Cellular Probes* 15, 209-215. <https://doi.org/10.1006/mcpr.2001.0363>
- Odetoyin B.W., Labar A.S., Lamikanra A., Aboderin A.O. y Okeke I.N. (2017). Classes 1 and 2 integrons in faecal *Escherichia coli* strains isolated from mother-child pairs in Nigeria. *PLoS ONE* 12 (8), e0183383. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183383>
- Partridge S.R., Kwong S.M., Firth N. y Jensen S.O. (2018). Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance. *Clinical Microbiology Reviews* 31(4), e00088-17. <https://doi.org/10.1128/CMR.00088-17>
- Perewari, D.O., Otokunfor, K. y Agbagwa, O.E. (2022). Tetracycline-resistant genes in *Escherichia coli* from clinical and nonclinical sources in Rivers state, Nigeria. *International Journal of Microbiology* 9, 9192424 <https://doi.org/10.1155/2022/9192424>
- Poole T.L., Callaway T.R., Norman K.N., Scott H.M., Loneragan G.H., Ison S.A., Beier R.C., Harhay D.M. y Norby B. (2017). Transferability of antimicrobial resistance from multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from cattle in the USA to *E. coli* and *Salmonella* Newport recipients. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 11, 123-132. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.08.001>
- Roberts M.C. y Schwarz S. (2016). Tetracycline and phenicol resistance genes and mechanisms: Importance for agriculture, the environment, and humans. *Journal of Environmental Quality* 45 (2), 576-92. <https://doi.org/10.2134/jeq2015.04.0207>
- Robledo Zacarías V.H., Velázquez Machuca M.A., Montañez Soto J.L., Pimentel Equihua J.L., Vallejo Cardona A.A., López Calvillo M.D. y Venegas González J. (2017). Hidroquímica y contaminantes emergentes en aguas residuales urbano-industriales de Morelia, Michoacán, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 33 (2), 221-235. <https://doi.org/10.20937/rica.2017.33.02.04>
- Rozwandowicz M., Brouwer M.S.M., Fischer J., Wagenaar J.A., González-Zorn B., Guerra B., Mevius D.J. y Hordijk J. (2018). Plasmids carrying antimicrobial

- resistance genes in Enterobacteriaceae. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 73 (5), 1121-1137. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx488>
- Scaria J., Anupama K.V. y Nidheesh P.V. (2021). Tetracyclines in the environment: An overview on the occurrence, fate, toxicity, detection, removal methods, and sludge management. *Science of The Total Environment* 771, 145291. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145291>
- Shin S.W., Shin K., Jung M., Belaynehe M. y Yoo S. (2015). Prevalence of antimicrobial resistance and transfer of tetracycline resistance genes in *Escherichia coli* isolates from beef cattle. *Applied and Environmental Microbiology* 81 (16), 5560-5566. <https://doi.org/10.1128/AEM.01511-15>
- Thaker M., Spanogiannopoulos P. y Wright G.D. (2010). The tetracycline resistome. *Cellular and Molecular Life Sciences* 67 (3), 419-431. <https://doi.org/10.1007/s00018-009-0172-6>
- Vázquez-López R., Solano-Gálvez S., León-Chávez B.A., Thompson-Bonilla M.R., Guerrero-González T., Gómez-Conde E., Martínez-Fong D. y González-Barrios J.A. (2018). Characterization of gene families encoding beta-lactamases of gram-negative rods isolated from ready-to-eat vegetables in Mexico City. *High Throughput* 7 (4), 36. <https://doi.org/10.3390/ht7040036>
- Villa L., García-Fernández A., Fortini D. y Carattoli A. (2010). Replicon sequence typing of IncF plasmids carrying virulence and resistance determinants. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 65 (12), 2518-2529. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq347>
- Wellington E.M., Boxall A.B., Cross P., Feil E.J., Gaze W.H., Hawkey P.M., Johnson- Rollings A.S., Jones D.L., Lee N.M., Otten W., Thomas C.M. y Williams A.P. (2013). The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *The Lancet Infectious Diseases* 13, 155-165. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(12\)70317-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(12)70317-1)
- WHO (2019). Model List of Essential Medicines 21st list. World Health Organization. Manual. Génova, Italia, 65 pp.
- Zahid S., Bin-Asif H., Hasan K.A., Rehman M. y Ali S.A. (2017). Prevalence and genetic profiling of tetracycline resistance (Tet-R) genes and transposable element (Tn916) in environmental *Enterococcus* species. *Microbial Pathogenesis* 111, 252-261. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.09.009>