VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

Efecto de los antibióticos en el biofilm de *Escherichia coli* Uropatogénica

Effect of Antibiotics on Uropathogenic *Escherichia coli* Biofilm

Daniel Gonzalo Gómez Revilla Mancilla[1], Merari Jacqueline Martínez Hernández [2], Ilse Johana Gómez Montelongo[2], Viridiana Ramírez Olmedo[1], Mayra Remedios Montecillo Aguado[1], Marco Antonio Hernández Luna[1]

[1]Departamento de Medicina y Nutrición División de Ciencias de la Salud, Universidad de Guanajuato, León, Guanajuato, México
[2]Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Gto. Guanajuato, México
dg.gomezrevillamancilla@ugto.mx, mj.martinezhernandez@ugto.mx, ij.gomezmontelongo@ugto.mx, viriolmedo@hotmail.com, mayramontecillo@gmail.com, marco.hernandez@ugto.mx

Resumen

Actualmente la resistencia bacteriana a los antibióticos es un importante problema de salud pública que ocurre cuando las bacterias desarrollan mecanismos para sobrevivir a los antibióticos. Como resultado, las infecciones son más difíciles de tratar, aumentan las complicaciones, las hospitalizaciones y el riesgo de muerte. Particularmente, *Escherichia coli* uropatogénica (UPEC), es el principal agente causal de las infecciones de vías urinarias (IVU), y cuya resistencia y virulencia es potenciada por la formación de una comunidad organizada contenida en una matriz extracelular denominada biofilm. Esta barrera ayuda a la persistencia y diseminación de la infección. Sin embargo, poco se sabe acerca de la regulación de las proteínas que conforman el biofilm, como las proteínas de la familia Upa, y si la exposición a antibióticos pueda contribuir al desarrollo del biofilm. Por lo que es importante evaluar el efecto de los antibióticos sobre la formación de esta biopelícula. Por lo tanto, analizamos el efecto de tres antibióticos (cloranfenicol, tetraciclina y ampicilina) a distintas concentraciones sobre la formación de biofilm de la cepa CFT073 en cultivos bacterianos *in vitro*. Asimismo, se caracterizaron 16 aislados clínicos de UPEC donde se evaluó la formación de biofilm, y mediante extracción de ADN, PCR punto final y electroforesis se detectaron genes relacionados a la adherencia (*fimH*, *ihf*) y secreción de la matriz (*upaH*, *upaB* y *upaG*). Nuestros hallazgos indican que dos antibióticos incrementaron la formación del biofilm a concentraciones menores a la mínima inhibitoria. Además, los genes *upaH*, *upaB* y *upaG* están presentes en 56% de los aislados clínicos, mientras que *fimH e ihf* se encontraron en el 93%. En conclusión, dosis incompletas de antibióticos pueden aumentar la formación del biofilm favoreciendo la resistencia bacteriana. Asimismo, se encontró que la mitad de aislados clínicos presentan los genes *upaH*, *upaB* y *upaG* que participan en la formación de biofilm contribuyendo a la persistencia de las IVUs.

Palabras clave: infecciones de vías urinarias, *Escherichia coli* uropatogénica, biofilm, resistencia a antibióticos.

Introducción

Las infecciones de vías urinarias (IVU) constituyen uno de los principales motivos de consulta y de prescripción de antibióticos más frecuentes en la práctica clínica, y afectan de manera desproporcionada a mujeres, adultos mayores y pacientes portadores de catéter urinario (Flores-Mireles et al., 2015). Se estima que una elevada proporción de mujeres presentará al menos un episodio de IVU a lo largo de su vida y que un porcentaje significativo de ellas experimentará infecciones recurrentes, lo que representa una carga considerable para los sistemas de salud. Las IVU comprenden desde cuadros no complicados, como la cistitis, hasta cuadros complicados y potencialmente graves, como lo son la pielonefritis y la urosepsis (Whelan et al., 2023). El principal agente etiológico de las IVU es *Escherichia coli* Uropatogénica (UPEC), responsable de aproximadamente el 75% de las IVU no complicadas y de más de la mitad de las complicadas (Whelan et al., 2023).

UPEC es un patógeno altamente adaptado al tracto urinario, que dispone de un amplio repertorio de factores de virulencia como lo son las adhesinas fimbriales, toxinas y proteínas autotransportadoras que le permiten colonizar el urotelio, evadir la respuesta inmune y persistir dentro del huésped (Welch et al., 2002)

Uno de los mecanismos que explican la persistencia y la recurrencia de las IVU es la capacidad de UPEC para formar biofilm. El biofilm es una comunidad estructurada de bacterias cubiertas por una matriz extracelular adheridas a una superficie biológica, como el urotelio, o sintética, como los catéteres (O'Toole, 2011). Esta organización confiere a las bacterias ventajas frente a las formas planctónicas: mayor adherencia, protección frente al sistema inmune y, de manera especialmente relevante, una notable tolerancia y resistencia a los antibióticos. La matriz actúa como barrera de difusión, el lento crecimiento de las células internas reduce la eficacia de los antibióticos que actúan sobre bacterias en división, y en el interior del biofilm coexisten bacterias persistentes en estado de dormancia altamente tolerantes (Hall & Mah, 2017). Además, la elevada densidad bacteriana dentro del biofilm favorece el intercambio horizontal de genes de resistencia. Por ello, las infecciones asociadas al biofilm suelen ser crónicas y difíciles de erradicar (Hall & Mah, 2017).

A lo anterior se suma el problema creciente de la resistencia a los antibióticos. En UPEC, la resistencia se produce por mutaciones cromosómicas, producción de enzimas que inactivan al antibiótico (como las β-lactamasas), bombas de expulsión y adquisición de elementos genéticos móviles como plásmidos (Whelan et al., 2023). En México, diversos estudios reportan proporciones muy altas de resistencia de *E. coli* uropatogénica a antibióticos de primera línea, especialmente a la ampicilina, así como una expansión preocupante de cepas productoras de β-lactamasas de espectro extendido (Molina-López et al., 2011; Cornejo-Juárez et al., 2019). La combinación de la formación de biofilm con la resistencia adquirida limita de manera importante las opciones terapéuticas y motiva el estudio del efecto de los antibióticos sobre el biofilm de UPEC.

Con base en lo anterior, el presente trabajo tuvo como objetivos: 1) Estandarizar un ensayo de formación de biofilm con la cepa de referencia UPEC CFT073, la cepa de referencia y mejor caracterizada de UPEC (Welch et al., 2002). 2) Evaluar el efecto de tres antibióticos (cloranfenicol, tetraciclina y ampicilina) sobre la formación de biofilm en la cepa CFT073 y en una variante de CFT073 que contiene un plásmido que tiene el gen de resistencia a ampicilina (CFT073-Amp^r); y 3) Caracterizar un conjunto de aislados clínicos de *E. coli* en cuanto a genes asociados a virulencia y biofilm, así como, su capacidad de formación de biofilm y su perfil de resistencia a antibióticos.

Materiales y métodos

Declaración ética

Tipo de estudio
Experimental. *Ensayos in vitro.*
Estudio comparativo

Cepas bacterianas

Se utilizó la cepa de referencia de *Escherichia coli* uropatogénica CFT073, así como una variante de la misma cepa transformada con un plásmido que confiere resistencia a ampicilina (CFT073-Amp^r). Adicionalmente, se incluyeron 16 aislados clínicos de *E. coli* obtenidos de urocultivos de pacientes con IVU (aislados 1–16). Todas las cepas se conservaron y cultivaron en medio Luria-Bertani (LB) bajo condiciones estériles hasta su utilización en los diferentes ensayos. **Comité de ética en investigación**

Estandarización del ensayo de formación de biofilm

La formación de biofilm se evaluó mediante el ensayo de microplaca con tinción de cristal violeta, siguiendo el protocolo descrito por O'Toole (2011), con modificaciones para su estandarización experimental. A partir de un cultivo nocturno de la cepa *E. coli* CFT073, se prepararon suspensiones bacterianas ajustadas a concentraciones de 10^6, 10^7 y 10^8 UFC/mL. Como control negativo se empleó caldo Luria-Bertani (LB) estéril sin inocular.

Las suspensiones bacterianas se distribuyeron en una microplaca estéril de 96 pozos de acuerdo con el diseño experimental mostrado en la Figura 1, utilizando triplicados para cada condición. Posteriormente, la placa se incubó a 37 °C para favorecer la adhesión bacteriana y la formación del biofilm.

Finalizada la incubación, el contenido de cada pozo se eliminó cuidadosamente para retirar las bacterias planctónicas y los pozos se lavaron con PBS estéril para remover las bacterias no adheridas. El biofilm formado se tiñó mediante la adición de 200 µL de cristal violeta al 0.1 %, dejándolo actuar durante 10–15 minutos a temperatura ambiente, el exceso de colorante se eliminó mediante lavados con agua destilada y la placa se dejó secar al aire. Para la cuantificación del biofilm, el cristal violeta retenido se solubilizó con 200 µL de ácido acético al 30 %, incubando nuevamente durante 15 minutos, Por último, la absorbancia se determinó a 550 nm en un lector de microplacas, utilizando ácido acético al 30 % como blanco, la cantidad de biofilm se consideró directamente proporcional a la absorbancia.

De manera complementaria, se realizó un ensayo de formación de biofilm en tubos de poliestireno de 20 mL (mismo material del cual están elaboradas las sondas empleadas en cateterismo), cada uno con aproximadamente una cuarta parte de su capacidad ocupada por el medio de cultivo. Se preparó un tubo con caldo LB como control negativo y tres tubos inoculados con las suspensiones bacterianas de 10^6, 10^7 y 10^8 UFC/mL, respectivamente. Tras la incubación, los tubos fueron sometidos al mismo procedimiento de lavado y tinción con cristal violeta, permitiendo la evaluación cualitativa de la formación del biofilm mediante la observación del anillo adherido a la pared interna del tubo.

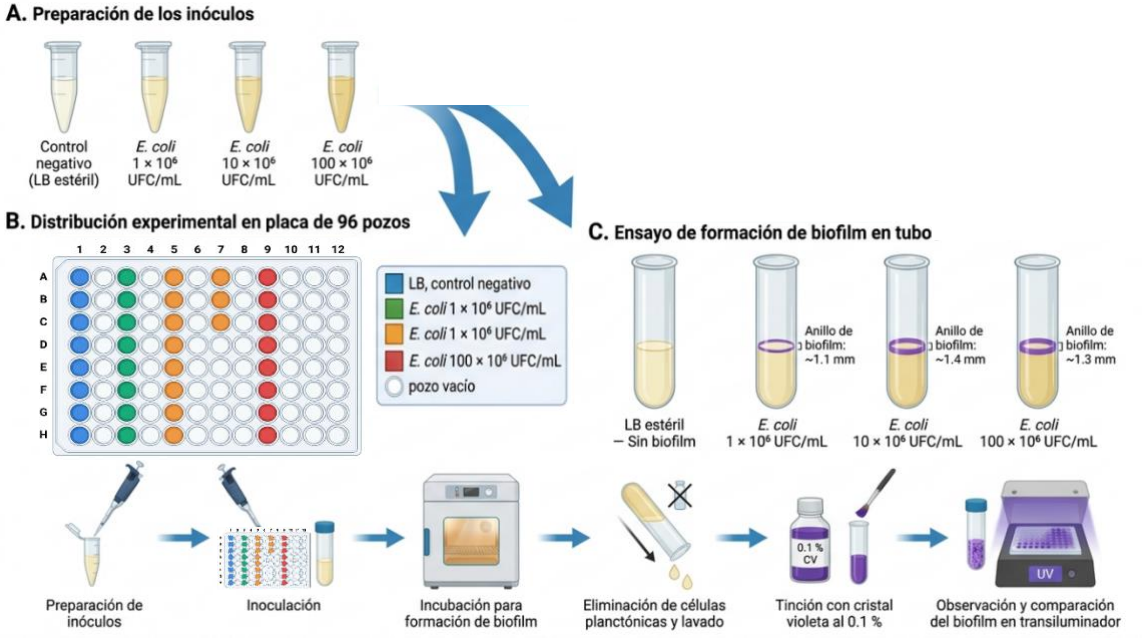


Figura 1: ~~Esquema del~~ diseño experimental para la evaluación de la formación de biofilm por Escherichia coli. A) A partir de un control negativo (caldo LB) y tres inóculos bacterianos estandarizados (10^6, 10^7 y 10^8 UFC/mL). B) se inocularon placas de microtitulación de 96 pozos y C) tubos de ensayo para promover la formación de biofilm. Tras la incubación, las muestras fueron lavadas, teñidas con cristal violeta al 0.1 % y analizadas mediante observación en transiluminador para comparar la formación de biofilm entre los diferentes tratamientos. Figura original elaborada por los autores con apoyo de herramientas de inteligencia artificial (FigureLabs AI)

Evaluación del efecto de los antibióticos sobre el biofilm

Para evaluar el efecto de los antibióticos se emplearon las cepas CFT073 y CFT073-Amp^r, partiendo de una suspensión estandarizada de 10^8 UFC/mL. Se probaron tres antibióticos: cloranfenicol, tetraciclina y ampicilina, a diferentes concentraciones de acuerdo con la Tabla 1. En cada placa se incluyeron un control negativo (LB sin bacteria) y un control positivo (cepa correspondiente sin antibiótico). Después de la incubación se ~~procedió a la~~ cuantificó el biofilm por tinción con cristal violeta como se describió previamente.

Tabla 1. Concentraciones experimentales de los antibióticos sobre la cepa CFT073

Antibióticos	Concentraciones				
Cloranfenicol	-	4 $\mu g/mL$	8 $\mu g/mL$	16 $\mu g/mL$	50 $\mu g/mL$
Ampicilina	-	4 $\mu g/mL$	8 $\mu g/mL$	16 $\mu g/mL$	50 $\mu g/mL$
Tetraciclina	2 $\mu g/mL$	4 $\mu g/mL$	8 $\mu g/mL$	16 $\mu g/mL$	50 $\mu g/mL$

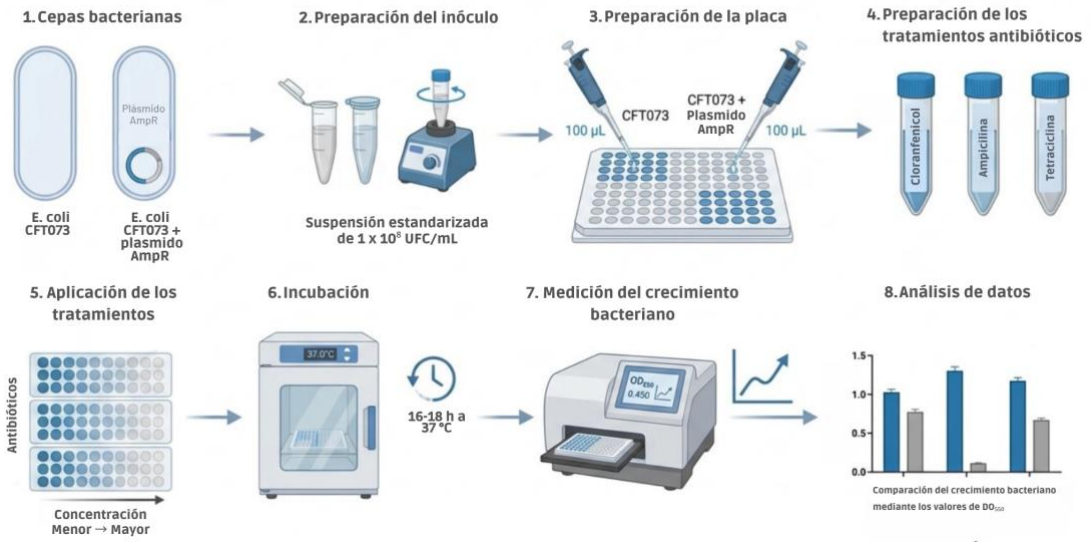


Figura 2. Flujo experimental para la evaluación de la susceptibilidad al antibiótico y su efecto sobre el biofilm. Se parte de las cepas CFT-073 y CFT-073 + plásmido de resistencia a ampicilina; se preparó un inóculo estandarizado (10^6 UFC/mL), se dispenso en la microplaca con las diferentes concentraciones de antibiótico (gradiente de mayor a menor), se incubo durante la noche a 37 °C, y se cuantificó el crecimiento y el biofilm por densidad óptica y tinción con cristal violeta. Figura original elaborada por los autores con apoyo de herramientas de inteligencia artificial (FigureLabs AI)

Caracterización de aislados clínicos

Los 16 aislados clínicos se sembraron en agar MacConkey y se inocularon en medio LB y se incubaron toda la noche a 37 °C. Al día siguiente se realizó un subcultivo a una dilución 1:100 y se dejó crecer hasta alcanzar una densidad óptica entre 0.4-0.5 a una longitud de onda de 540 nm. Posteriormente, de cada aislado clínico se ajustó a una cantidad de 10^8 en 200 microlitros de LB en placas de 96 pozos y se incubó nuevamente por 18 horas a 37 °C. Por último, se evaluó la formación del biofilm en cada uno de los aislados clínicos por el método de cristal violeta. Como control se utilizó a la cepa CFT073.

Adicionalmente, para la caracterización molecular de los aislados, a partir de los aislados clínicos se purificó el ADN genómico mediante el método estándar de TRIzol de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Posteriormente, el ADN se cuantificó mediante espectrofotometría. El análisis de los filos se realizó mediante la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) punto final, utilizando primers específicos para los genes del ARNr 16S como control endógeno y para genes relacionados a la adherencia (*fimH, ihf*) y secreción de la matriz (*upaH, upaB y upaG*). Los productos de amplificación de PCR fueron separados mediante electroforesis en geles de agarosa al 0.8% y teñidos con SYBR Safe. La visualización de bandas se efectuó con un sistema de documentación iBright 1500. Finalmente, se determinó el perfil de resistencia a un panel de antibióticos de distintas familias (penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos, quinolonas, aminoglucósidos y otros), expresando los resultados como el porcentaje de aislados resistentes a cada antibiótico.

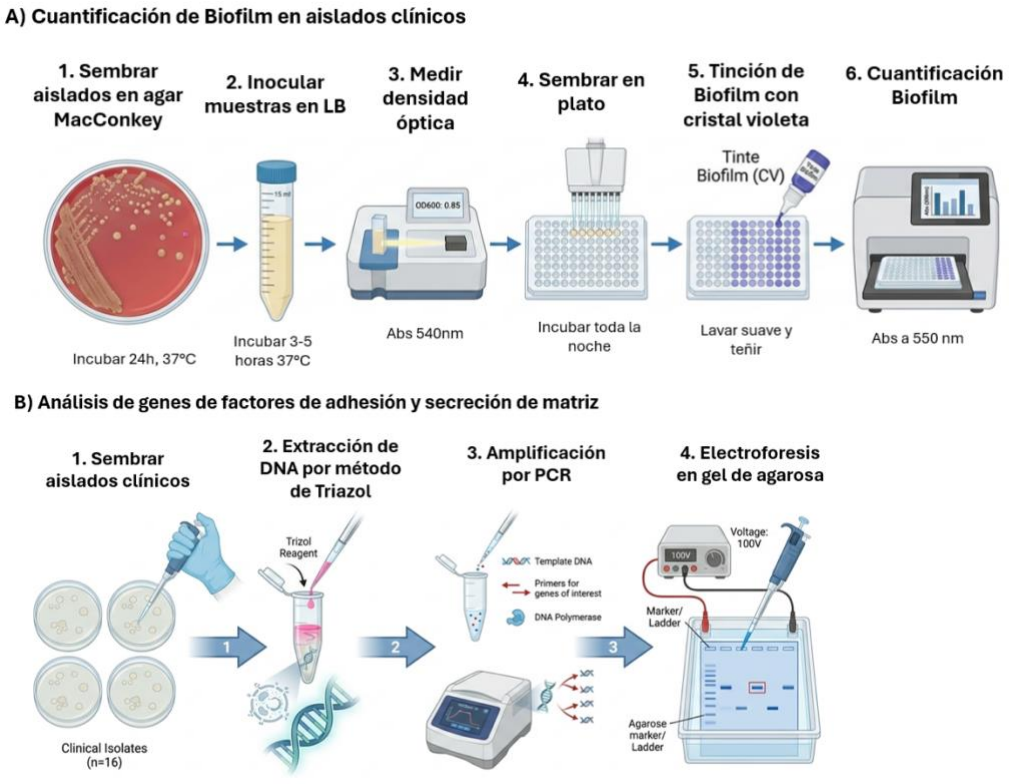


Figura 3. Metodologia para caracterización de Aislados clínicos. A) Cuantificación de biofilm formado por las cepas. Se inoculó la cepa en agar MacConkey, se realizó un subcultivo por 3-5 horas hasta alcanzar la fase exponencial, se cultivan los aislados en placa, se realizó una tinción con cristal violeta. Se midió la absorbancia a 550nm. B) Análisis de genes relacionados a factores de adherencia y secreción de matriz presentes en las muestras clínicas. Se inocularon en agar MacConkey, se realizó extración de ADN de todas las cepas por el metodo de TRIzol, se amplificaron los genes de interes mediante PCR punto final. Se realizó una electroforesis para determinar la presencia de los genes. Figura original elaborada por los autores con apoyo de herramientas de inteligencia artificial (FigureLabs AI)

Resultados

Estandarización del ensayo de formación de biofilm

La cepa CFT073 formó biofilm de manera dependiente de la concentración del inóculo con respecto al control, que se logró evidenciar por el anillo violeta adherido a la pared interna del tubo (Figura 4A). Asimismo, se evaluó el ancho del anillo del biofilm a partir de 3 mediciones independientes observandose valores aproximadamente de 1.1, 1.2, 1.4 mm, para las concentraciones de 10^6, 10^7 y 10^8 UFC/mL respectivamente (Figura 4B).

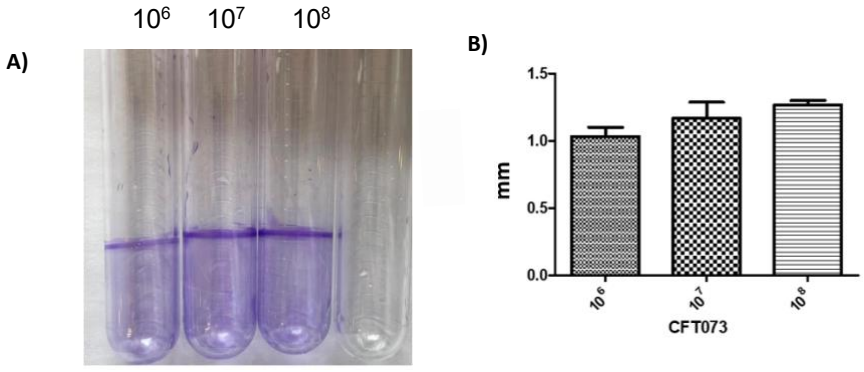


Figura 4. A) Evaluación visual de la formación de biofilm de la cepa de Escherichia coli CFT073 mediante el ensayo en tubos. B) Medición del tamaño del anillo del biofilm de UPEC en milimetros. Los datos representan la media ± error estándar de la media y se analizaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones post hoc de Dunn.

Se evaluó la formación de biofilm de *Escherichia coli* uropatogénica CFT073 a través de inóculos de 10^6, 10^7 y 10^8 UFC/mL mediante el ensayo de microplaca con cristal violeta, esta cuantificación mostró un incremento progresivo de la absorbancia a 550 nm conforme aumentó la concentración bacteriana (Figura 5). El control negativo presentó una menor absorbancia, mientras que el análisis estadístico mostró diferencias significativas entre el control y las concentraciones de 10^6 (**p< 0.01), 10^7 (***p< 0.001) UFC/mL, lo que indica un incremento significativo en la formación de biofilm conforme aumentó la concentración bacteriana.

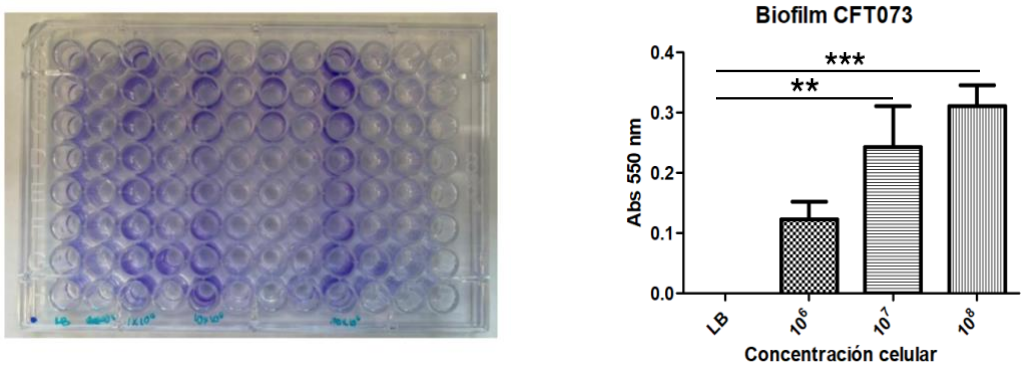


*Figura 5. Estandarización de la formación de biofilm de UPEC CFT-073. Izquierda: microplaca de 96 pozos teñida con cristal violeta tras el ensayo de biofilm. Derecha: cuantificación del biofilm (Abs 550 nm) del control (LB) y de las suspensiones de 10^6, 10^7 y 10^8 UFC/mL;, los datos representan la media ± error estándar de la media y se analizaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones post hoc de Dunn. Los asteriscos (*) indican diferencias estadísticamente significativas de *p < 0,05, **p < 0,01 y ***p < 0,001., esta diferencia sucede entre las concentraciones 10^7 y 10^8, ambas con el control.*

Efecto de los antibióticos sobre el biofilm

Los tres antibióticos evaluados modificaron la formación de biofilm en la cepa CFT073. Con cloranfenicol se observó una disminución del biofilm dependiente de la concentración (Figura 6A). Con tetraciclina también se registró una reducción del biofilm, siendo más marcada a 50 µg/mL (Figura 6B). En el caso de la ampicilina la cepa CFT073 también disminuyó su biofilm de forma clara al aumentar la concentración del antibiótico, alcanzando la menor formación de biofilm en la concentración de 50 µg/mL (Figura 6C).

En contraste, en la cepa CFT073-Amp^r no se redujo la formación de biofilm. Esta cepa mantuvo un biofilm constante independientemente de las concentraciones de ampicilina (Figura 6D). Este comportamiento es congruente con la resistencia a ampicilina conferida por el plásmido y contrasta con la reducción observada en la cepa CFT073 que no presenta resistencia a ampicilina, lo que apoya la validez del modelo experimental.

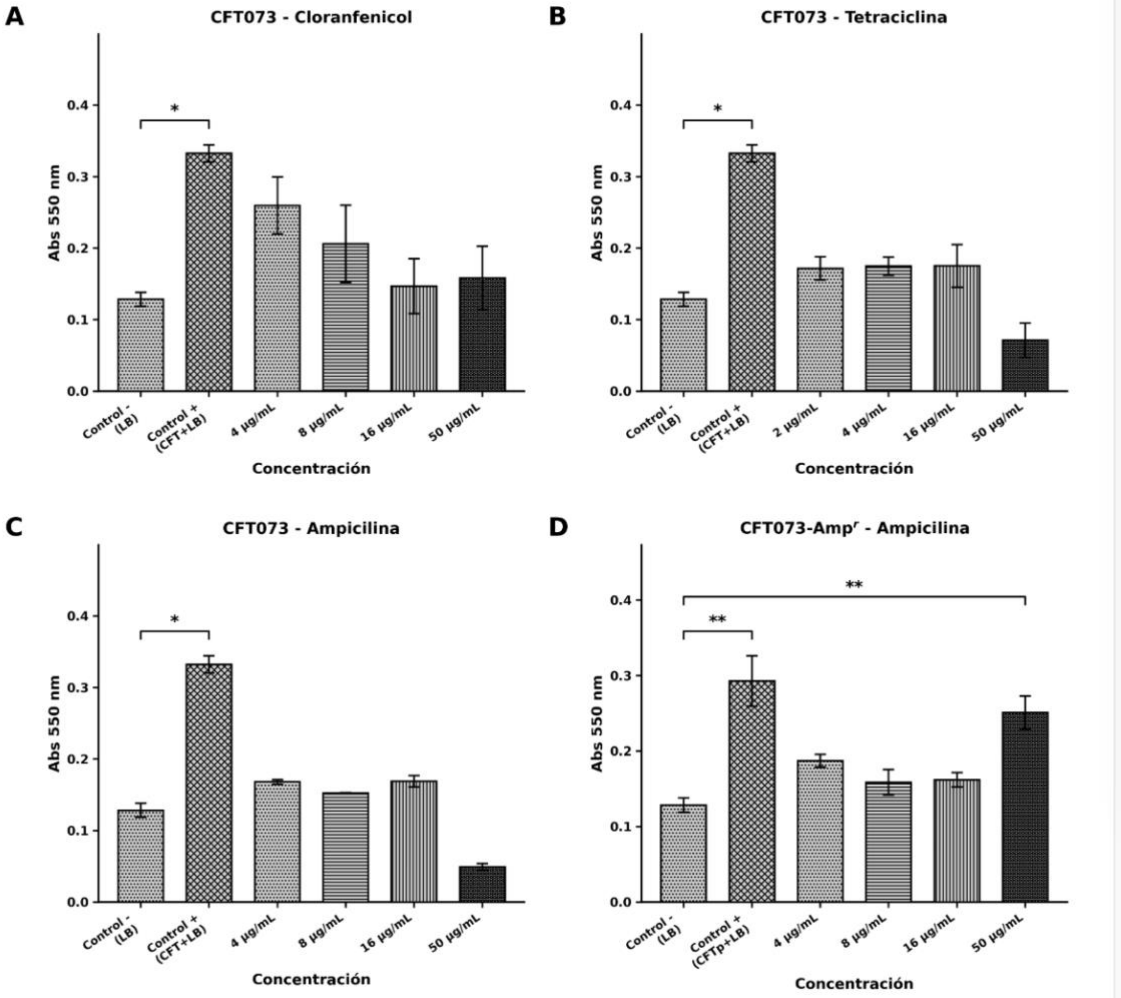


*Figura 6. Efecto de distintos antibióticos sobre la formación de biofilm de E. coli CFT073. Biofilm cuantificado por tinción con cristal violeta (Abs 550 nm) en el control negativo (LB), el control positivo (cepa + LB, sin antibiótico) y tras el tratamiento con A) cloranfenicol, B) tetraciclina y C) ampicilina en CFT073, y D) ampicilina en CFT073-Amp^r (portadora del plásmido de resistencia), a 2–50 µg/mL. Los datos representan la media ± error estándar de la media (n = 2–4) y se analizaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis con comparaciones post hoc de Dunn frente al control negativo. Los asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas: *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001.*

Caracterización molecular de aislados clínicos

Respecto a la capacidad de formación de biofilm, los aislados mostraron un comportamiento variable: la mayoría formó biofilm menor al que presenta la cepa de referencia CFT073 (valores cercanos a 0.07–0.10), mientras que los aislados clínicos 5, 10 y 14 mostraron una mayor formación de biofilm en comparación a la cepa de referencia. Al expresar la formación de biofilm de manera relativa a la cepa CFT073 (valor de referencia = 1.00), las cepas 5 y 14 superaron ampliamente a la cepa de referencia (1.91 y 1.80, respectivamente), lo que indica una capacidad de formación de biofilm superior a la de la cepa de referencia (Figura 9).

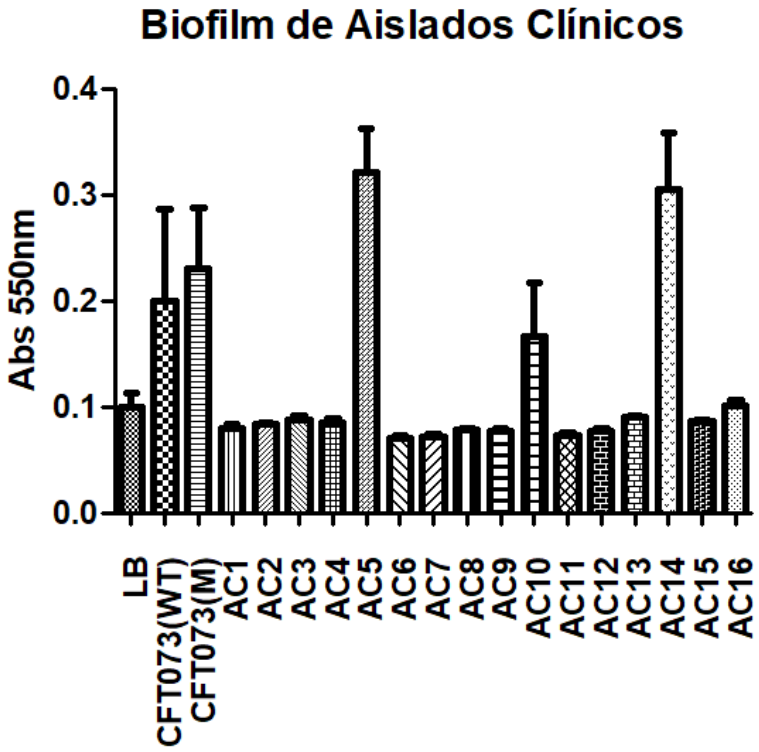


*Figura 7. Formación de biofilm de los aislados clínicos de E. coli. Cuantificación del biofilm (Abs 550 nm) de los 16 aislados (AC 1–16) frente al control (LB) y a la cepa de referencia CFT073. Las cepas 5, 10 y 14 destacan como fuertes formadoras de biofilm. En todos los gráficos, los datos representan la media ± error estándar de la media y se analizaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis y comparaciones post hoc de Dunn. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (*p < 0,05, **p < 0,01 y ***p < 0,001).*

El análisis por PCR mostró que los 16 aislados clínicos presentan una distribución heterogénea de los genes asociados a la formación de biofilm evaluados *upaB, upaG, upaH.* Como control endógeno se utilizó la detección del gen ribosomal 16S en todos los aislados. Esta variabilidad genética entre cepas es consistente con la naturaleza mosaico del genoma de UPEC (Welch et al., 2002). Con respecto a los genes asociados a factores de adherencia *ihf, fimH* se encontraron presentes en el 93% de los aislados, mientras que los genes de la familia Upa responsables de la secreción de la matriz extracelular se encontraron en el 56% de los aislados clínicos (Figura 8).

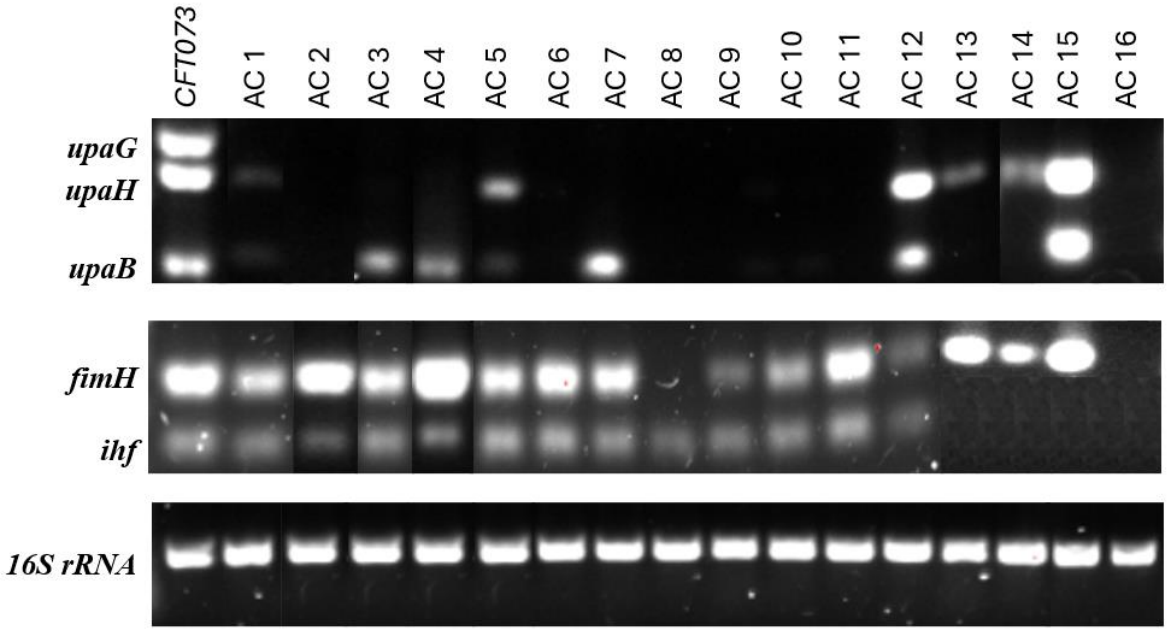


Figura 8. Análisis por PCR de genes asociados a formación de biofilm y factores de adherencia en los aislados clínicos (AC). Se muestran los productos de amplificación de los genes relacionados a la adherencia (fimH, ihf), secreción de la matriz (upaH, upaB y upaG). y del control endógeno 16S en los 16 aislados y el control positivo (CFT073).

Adicionalmente, no encontramos una posible asociación entre la presencia de los genes de la familia Upa con un mayor incremento del biofilm (Figura 9).

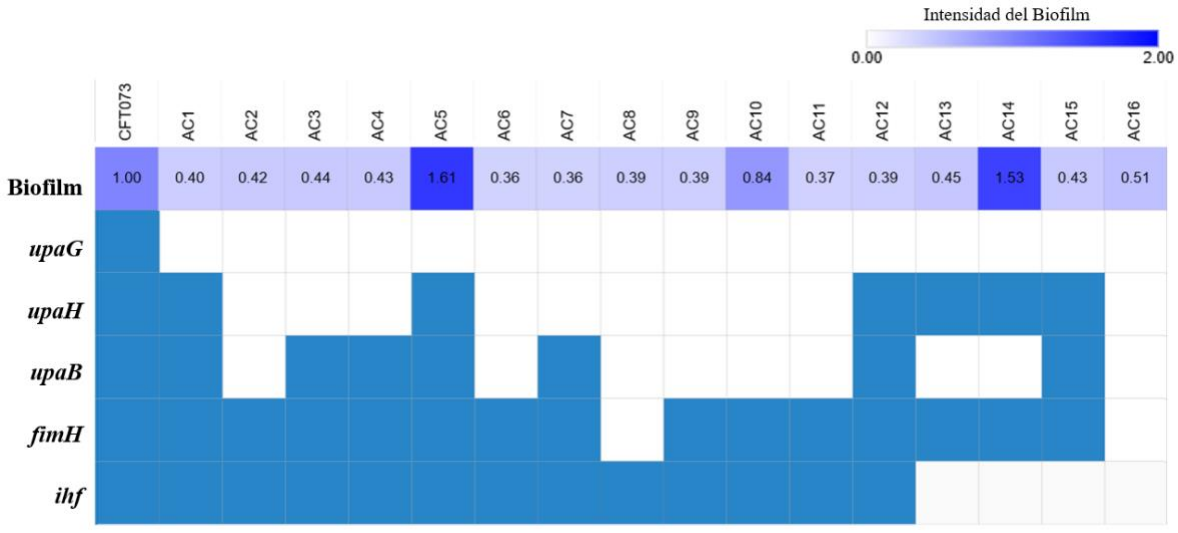


Figura 9. Comparación integrada de los aislados clínicos. Formación de biofilm relativa a CFT073 (valor = 1.00) y presencia (azul) /ausencia (blanco) de los genes evaluados (UPA y factores asociados) en cada cepa. Los aislados 5 (1.61) y 14 (1.53) muestran la mayor formación de biofilm.

Por último, en la Figura 10 mostramos el perfil de resistencia a antibióticos de los aislados clínicos. De forma alarmante se observa que la mayoría de los aislados mostraron resistencia a múltiples familias de antibióticos. La ampicilina fue el antibiótico con mayor porcentaje de resistencia entre los aislados clínicos (87.5%), seguido de levofloxacino y ciprofloxacino (75% cada uno), cefuroxima (68.8%), trimetoprima-sulfametoxazol y cefotaxima (62.5% cada uno), por su parte antibióticos como. la fosfomicina, la amikacina y la amoxicilina-clavulanato mostraron los porcentajes de resistencia más bajos. Mientras que ninguno de los aislados mostro resistencia a la nitrofurantoína y el ertapenem. Este patrón, con alta resistencia a penicilinas, quinolonas y varias cefalosporinas, y buena actividad conservada de nitrofurantoína y carbapenémicos, coincide con lo reportado para *E. coli* uropatogénica en México (Molina-López et al., 2011; Cornejo-Juárez et al., 2019).

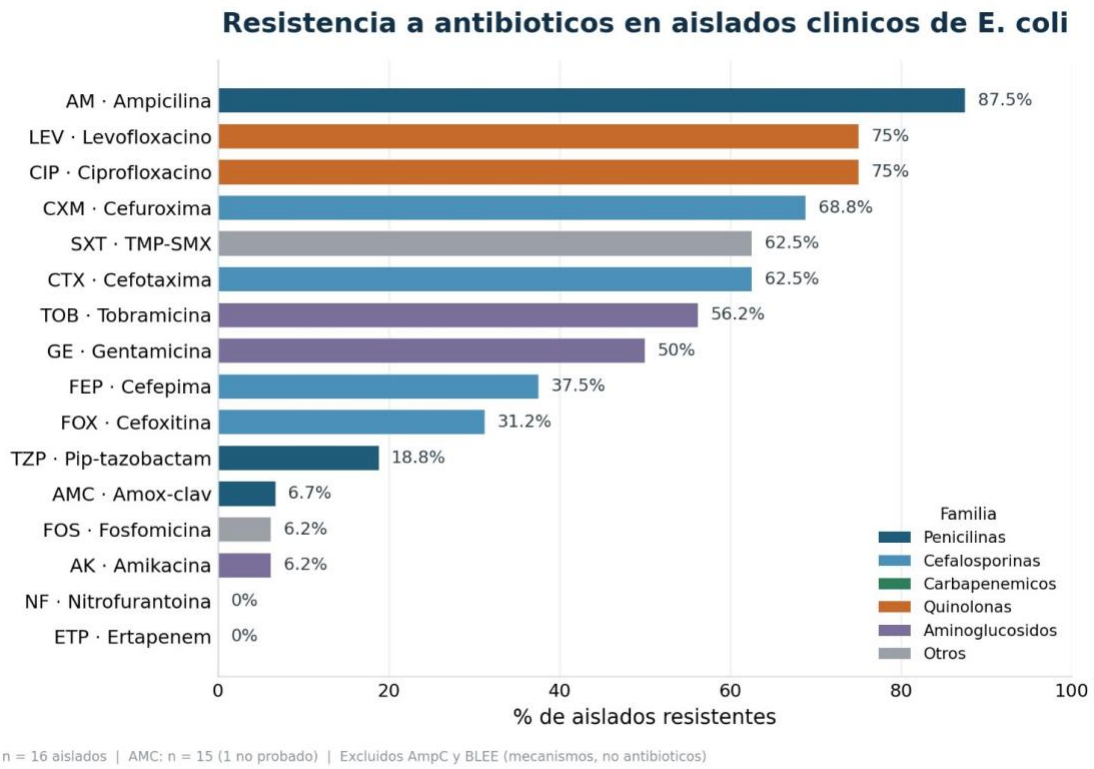


Figura 10. Perfil de resistencia a antibióticos de los aislados clínicos. Porcentaje de aislados resistentes a cada antibiótico, agrupados por familia. La ampicilina presenta el mayor porcentaje de resistencia (87.5%); la nitrofurantoína y el ertapenem, el menor (0%).

Discusión

En este trabajo evaluamos la formación de biofilm y el efecto que tienen los antibióticos en la cepa de referencia UPEC CFT073, así como, en la cepa CFT073-Amp^r. Además de caracterizar el biofilm y los genes asociados a esta estructura en aislados clínicos obtenidos de pacientes con IVU. La formación de biofilm dependiente del inóculo y el anillo visible en el ensayo en tubo confirman que el modelo con cristal violeta es adecuado y reproducible para cuantificar biofilm. La selección del inóculo de 10^8 UFC/mL permitió trabajar con una señal de biofilm robusta y comparable entre condiciones.

El efecto de los antibióticos sobre el biofilm fue dependiente tanto del antibiótico como de la concentración. En la cepa sensible CFT073, el cloranfenicol, la tetraciclina y la ampicilina la reducción de la formación de biofilm fue dosis dependiente, lo que indica que, a las concentraciones probadas en este estudio estos antibióticos interfieren con el establecimiento del biofilm. En cambio, la cepa portadora del plásmido de resistencia a ampicilina (CFT073-Amp^r) mantuvo su biofilm frente a este antibiótico, un resultado esperado

que demuestra que la resistencia conferida por el gen de resistencia a ampicilina protege también la capacidad de formar biofilm y que valida el diseño experimental.

Es importante señalar que el efecto de los antibióticos sobre el biofilm no siempre es una simple reducción. Se ha descrito que diversos antibióticos cuando son administrados en concentraciones subinhibitorias (por debajo de la concentración mínima inhibitoria) no solo inhiben la formación del biofilm, sino que pueden incluso estimular su formación en diferentes bacterias, incluida *E. coli* (Hoffman et al., 2005; Ramírez-Barría et al., 2023). Por ello, la interpretación de estos resultados debe ser cautelosa y, para conclusiones definitivas, es necesario determinar la concentración mínima inhibitoria de cada antibiótico para cada cepa, además de incluir un mayor número de réplicas y aplicar pruebas estadísticas.

Finalmente, al caracterizar molecularmente los aislados clínicos apoya nuestros hallazgos. La heterogeneidad en los genes asociados al biofilm, así como la amplia variación en la capacidad de formar biofilm entre cepas con algunas (5, 10 y 14) claramente superiores a la cepa de referencia reflejan la diversidad genética y fenotípica característica de UPEC (Welch et al., 2002). De manera relevante, el perfil de resistencia mostró una elevada proporción de cepas resistentes a ampicilina, quinolonas y varias cefalosporinas, un patrón preocupante que coincide con lo reportado para México y que limita las opciones de tratamiento empírico (Molina-López et al., 2011; Cornejo-Juárez et al., 2019). La buena actividad conservada de la nitrofurantoína y de los carbapenémicos concuerda con su papel como opciones terapéuticas en IVU por cepas multirresistentes.

Conclusión

En conclusión, nuestros hallazgos remarcan la importancia de que dosis incompletas de antibióticos pueden mediar la resistencia bacteriana a través del incremento de la formación del biofilm. Asimismo, este trabajo representa una de las primeras investigaciones en población mexicana que integra un enfoque de biología molecular para evaluar genes implicados en la formación de biofilm en un contexto de resistencia bacteriana, encontrando que la mitad de aislados clínicos presentan los genes *upaH*, *upaB* y *upaG,* y más del 90% los genes *fimH e ihf* que participan en la formación de biofilm contribuyendo a la persistencia de las IVUs. Entre las limitaciones del estudio se encuentran el número de réplicas y la necesidad de homogeneizar los controles del ensayo de antibióticos; abordarlas en trabajos futuros servirá para fortalecer las conclusiones, así como entender y explorar nuevas estrategias dirigidas sobre blancos moleculares novedosos que participan en la formación del biofilm como mecanismo de resistencia bacteriana.

Referencias

Cornejo-Juárez, P., et al. (2019). Antibiotic resistance: Microbiological profile of urinary tract infections in Mexico. Cirugía y Cirujanos, 87(2), 176–182.

Flores-Mireles, A. L., Walker, J. N., Caparon, M., & Hultgren, S. J. (2015). Urinary tract infections: Epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. Nature Reviews Microbiology, 13(5), 269–284. https://doi.org/10.1038/nrmicro3432

Hall, C. W., & Mah, T.-F. (2017). Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria. FEMS Microbiology Reviews, 41(3), 276–301. https://doi.org/10.1093/femsre/fux010

Hoffman, L. R., D'Argenio, D. A., MacCoss, M. J., Zhang, Z., Jones, R. A., & Miller, S. I. (2005). Aminoglycoside antibiotics induce bacterial biofilm formation. Nature, 436(7054), 1171–1175. https://doi.org/10.1038/nature03912

Molina-López, J., et al. (2011). High resistance prevalence towards ampicillin, co-trimoxazole and ciprofloxacin, among uropathogenic Escherichia coli isolates in Mexico City. The Journal of Infection in Developing Countries, 5(4), 296–301.

O'Toole, G. A. (2011). Microtiter dish biofilm formation assay. Journal of Visualized Experiments, (47), e2437. https://doi.org/10.3791/2437

Ramírez-Castillo, F. Y., et al. (2023). Biofilm formation by Escherichia coli isolated from urinary tract infections from Aguascalientes, Mexico. Microorganisms, 11(12), 2858. https://doi.org/10.3390/microorganisms11122858

Welch, R. A., et al. (2002). Extensive mosaic structure revealed by the complete genome sequence of uropathogenic Escherichia coli. Proceedings of the National Academy of Sciences, 99(26), 17020–17024. https://doi.org/10.1073/pnas.252529799

Whelan, S., Lucey, B., & Finn, K. (2023). Uropathogenic Escherichia coli (UPEC)-associated urinary tract infections: The molecular basis for challenges to effective treatment. Microorganisms, 11(9), 2169. https://doi.org/10.3390/microorganisms11092169