

## Resistencia de *Escherichia coli* en aves silvestres de plazas infantiles en Córdoba, Argentina

### Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* in wild birds from children's playgrounds in Córdoba, Argentina

María del Pilar Zarazaga<sup>1, 2</sup> , María Guadalupe Ramos Demmel<sup>2</sup>, Lucila Nadine Capovila Coombes<sup>2</sup>, María Victoria Ciccarelli<sup>2</sup>, Mateo Cordoba Valente<sup>2</sup>, Selene De la Fuente Toledo<sup>2</sup>, Agustín Poli<sup>2</sup>, Abril Santiago<sup>2</sup>, Nicolás Javier Litterio<sup>1, 2</sup>

1. Facultad de Ciencias Agropecuarias, IRNASUS CONICET-Universidad Católica de Córdoba, Argentina.

2. Universidad Católica de Córdoba. Seminario de Salud Pública. Epidemiología aplicada.

Correspondencia: María del Pilar Zarazaga. Email: pzarazaga@ucc.edu.ar

#### Resumen

La creciente presencia de aves silvestres, especialmente palomas, en áreas urbanas ha suscitado preocupaciones sobre su impacto en la salud pública, dado que pueden actuar como vectores de bacterias que poseen genes de resistencia a los antimicrobianos y de patógenos zoonóticos. Este estudio se centró en el aislamiento, identificación y evaluación del perfil de resistencia de *Escherichia coli* en materia fecal de aves silvestres en plazas recreativas infantiles de Córdoba, Argentina. Se recolectaron 14 muestras de materia fecal, de las cuales se aislaron seis cepas de *Escherichia coli*. Se observó un 67% de cepas resistentes al florfenicol, un 50% a enrofloxacin y gentamicina, un 33% a estreptomycin, tetraciclina y trimetoprim-sulfametoxazol, y un 16% a ceftiofur. Además, el 50% de las cepas fueron resistentes a más de un antimicrobiano, y el 33% resultaron ser multiresistentes. La presencia del gen eaeA, relacionado con cepas patógenas, se confirmó en las seis cepas aisladas. Estos hallazgos sugieren que la materia fecal de aves silvestres en plazas de Córdoba podría representar un riesgo zoonótico, especialmente para los niños que utilizan estos espacios.

**Palabras claves:** *Escherichia coli*, resistencia antimicrobiana, reservorio, salud pública, aves silvestres.

#### Abstract

The increasing presence of wild birds, particularly pigeons, in urban areas has raised concerns about their impact on public health, as they can act as vectors for bacteria with antimicrobial resistance genes and zoonotic pathogens. This study focused on the isolation, identification, and evaluation of the resistance profile of *Escherichia coli* in fecal matter from wild birds in children's recreational areas in Córdoba, Argentina. Fourteen fecal samples were collected, from which six *Escherichia coli* strains were isolated. A 67% resistance rate was observed for florfenicol, 50% for enrofloxacin and gentamicin, 33% for streptomycin, tetracycline, and trimethoprim-sulfamethoxazole, and 16% for ceftiofur. Additionally, 50% of the strains were resistant to more than one antimicrobial, and 33% were found to be multidrug-resistant. The presence of the eaeA gene, associated with pathogenic strains, was confirmed in all six isolated strains. These findings suggest that fecal matter from wild birds in Córdoba's parks could pose a zoonotic risk, particularly to children using these spaces.

**Keywords:** *Escherichia coli*, antimicrobial resistance, reservoir, public health, wild birds.

## Introducción

La presencia de aves silvestres, especialmente palomas, en áreas urbanas ha suscitado una creciente preocupación por su impacto en la salud pública. Estas aves son capaces de recorrer grandes distancias dentro del entorno urbano, lo que facilita la diseminación de patógenos, muchos de los cuales tienen relevancia clínica y epidemiológica<sup>1</sup>. Debido a su contacto cercano con los humanos, en particular con niños en espacios recreativos como plazas, las palomas pueden actuar como vectores de patógenos zoonóticos.

Además, las aves silvestres son ampliamente reconocidas como portadoras de bacterias y genes de resistencia a los antimicrobianos. Aquellas que habitan cerca de entornos humanos pueden adquirir bacterias multirresistentes a partir de fuentes antropogénicas, como aguas residuales urbanas y vertederos, actuando, así como centinelas que reflejan la actividad humana<sup>2</sup>. Por lo tanto, estas aves, que no están expuestas directamente a agentes antibióticos, pueden infectarse con bacterias resistentes a través del contacto con un entorno contaminado<sup>3</sup>. La aparición de bacterias resistentes a los antibióticos se ha convertido en una preocupación global en el ámbito de la salud pública. En los últimos años, se han identificado nuevos mecanismos de resistencia que afectan a diversas clases de antimicrobianos, y estos están propagándose a nivel mundial<sup>4</sup>. Este creciente desafío exige una comprensión detallada de los patrones de resistencia, lo cual es fundamental para desarrollar estrategias efectivas de control y mitigación<sup>3</sup>.

En este contexto, *Escherichia coli* presente en las heces de las aves, es una bacteria valiosa para estudiar, no solo porque puede portar y transferir genes de resistencia, sino también porque posee variantes patogénicas que afectan tanto a las personas como a los animales. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue aislar, identificar y evaluar el perfil de resistencia de *Escherichia coli* en materia fecal de aves silvestres en plazas recreativas infantiles de la provincia de Córdoba.

## Material y método

Se recolectaron 13 muestras de materia fecal de aves silvestres en plazas recreativas del área de influencia de la ciudad de Córdoba, Argentina, utilizando un muestreo totalmente aleatorizado (Tabla 1). Las muestras se almacenaron en

frascos estériles de 50 ml, se identificaron y se refrigeraron a 4 °C hasta su análisis.

**Tabla 1.** Plazas muestreadas de la provincia de Córdoba, Argentina.

PLAZA	CIUDAD	NÚMERO DE MUESTRAS
Parque Sarmiento	Córdoba	1
Plaza de Los Niños	Córdoba	1
Plaza Manuel Belgrano	Villa Allende	1
Plaza Rivadavia	Córdoba	1
Monza 154	Córdoba	1
Plaza San Martín	Córdoba	1
Parque De los Niños	Alta Gracia	1
Plaza de Arguello Lisardo Novillo	Córdoba	1
Saravia	Córdoba	1
Parque de las tejas	Córdoba	1
Plaza de la intendencia, Héroes de Malvinas	Córdoba	2
Plazuela Julio Cesar Paganetto	Córdoba	1
Parque Sarmiento	Córdoba	1
<b>TOTAL</b>		<b>13</b>

Antes del análisis, las muestras se clasificaron según su consistencia en blandas o duras, evaluando su porción sólida, líquida y su forma (tubular bien formada o amorfa), con el fin de determinar si las heces blandas podrían presentar una mayor carga bacteriana que favoreciera el aislamiento.

Cada muestra de materia fecal se sembró en agar Eosina y Azul de Metileno (EMB) y se incubó a 37 °C durante 24 horas. A partir del crecimiento bacteriano observable, se seleccionó una colonia característica de color verde metálico, correspondiente a *Escherichia coli*, de cada muestra. Posteriormente, las colonias típicas fueron sometidas a caracterización fenotípica mediante pruebas bioquímicas convencionales. Una vez confirmados los resultados de estas pruebas, las cepas se crioconservaron a -80 °C. Las cepas fueron expuestas a 10 antimicrobianos de importancia tanto en salud pública como animal<sup>5</sup>. Se utilizó la prueba de microdilución en caldo<sup>6</sup> para estimar las concentraciones mínimas inhibitorias de amoxicilina (AMX), ceftiofur (CFT), enrofloxacin (ENR), estreptomycin (EST), florfenicol (FLF), gentamicina (GEN), tetraciclina (TET) y trimetoprim-sulfametoxazol (TMT/SUL). Como control se empleó *Escherichia coli* ATCC 25922 y para la valoración de resistencia, se consideraron los puntos de corte epidemiológicos (ECOFFs) propuestos por EUCAST 2023<sup>7</sup>.

La técnica de PCR se empleó para la determinación genotípica, permitiendo la identificación de los genes eaeA, característicos de *Escherichia coli* enteropatogénica. Para extraer el ADN, cada las cepas fueron suspendidas en un buffer 10x, sometida a lisis en un baño seco a 100°C durante 10 minutos, seguido de una centrifugación a 1500 g durante 15 minutos a 4°C para obtener el sobrenadante de cada muestra. Posteriormente, se evaluó la concentración y pureza del ADN colocando 1 µl en el

NanoDrop™, midiendo la absorbancia de la muestra.

Para evaluar la asociación entre la consistencia de las heces y la presencia de *Escherichia coli* se empleó como estimador a la razón de prevalencias y el estadístico Chi cuadrado de Fisher ( $p < 0,05$ ) mediante el programa informático Win Epi (Universidad de Zaragoza© 2006).

## Resultado y discusión

De las 13 muestras de materia fecal de aves silvestres recolectadas en plazas, 8 presentaban consistencia blanda y 5, consistencia dura. Se aisló *Escherichia coli* en 4 muestras blandas y 2 duras (figura 1), lo que resultó en un porcentaje de recuperación del 46%, ligeramente inferior al 62% reportado por Carlos et al. (2016)<sup>8</sup>. Es importante destacar que, a diferencia de este estudio, en el que las muestras se recolectaron del ambiente, Carlos et al. obtuvieron las muestras directamente de la cloaca de las aves capturadas.



**Figura 1.** Aislamiento e identificación de *Escherichia coli* en materia fecal de aves silvestres mediante pruebas bioquímicas. A) Siembra en agar EMB mostrando colonias típicas de color verde brillante. B) Pruebas bioquímicas para la confirmación, incluyendo indol, TSI, lisina, citrato y urea.

El aislamiento de *Escherichia coli* fue 1,25 veces más probable en muestras de materia fecal clasificadas como blandas en comparación con las duras, de acuerdo con la razón de prevalencias (tabla 2). Sin embargo, esta diferencia no resultó estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ), posiblemente debido al tamaño reducido de la muestra.

**Tabla 2.** Evaluación de la asociación entre consistencia blanda/dura y la presencia de *Escherichia coli* en materia fecal de aves silvestres de la provincia de Córdoba (n=13).

Consistencia	<i>Escherichia coli</i>		Total
	SI	NO	
<b>Blanda</b>	4	4	8
<b>Dura</b>	2	3	5
<b>Total</b>	6	7	13

Razón de prevalencias = 1,25 ( $p > 0,05$ )

El 67% de las cepas de *Escherichia coli* mostraron resistencia a FLF, mientras que ENR y GEN presentaron una resistencia del 50%. Además, el 33% evidenció resistencia a EST, TET y TMT/SUL, y solo se detectó un 16% de resistencia a CFT (Tabla 3). Asimismo, el 50% de las *Escherichia coli* analizadas fueron resistentes a más de un antimicrobiano, y el 33% resultaron ser multirresistentes. En comparación con los hallazgos de Ahmed y Gulhan (2024)<sup>3</sup>, donde el 63% de los aislados mostraron resistencia a al menos un antibiótico y el 29% fueron multirresistentes, este estudio halló cifras superiores, con el 100% de las cepas de *Escherichia coli* resistentes a un antimicrobiano, el 50% a dos, y el 33% siendo multirresistentes (resistentes a dos o más antimicrobianos). En su estudio, la resistencia fue mayor en TET (52%) y kanamicina (38%). Por su parte, Capita et al. (2019)<sup>9</sup> informaron que más del 50% de las cepas presentaron resistencia a antimicrobianos considerados críticos, como ampicilina, ceftazidima, estreptomina y tetraciclina. Las variaciones en las tasas de resistencia a diferentes antibióticos observadas en el presente estudio pueden atribuirse a diferencias en la presión antimicrobiana entre regiones, en contraste con los estudios comparados realizados en España y Turquía.

**Tabla 3.** Perfil de resistencia (R) y silvestre “wild type” (S) de *Escherichia coli* a diferentes antimicrobianos en muestras de materia fecal de palomas.

Muestra	Antimicrobiano Ensayado							
	AMX	CFT	ENR	EST	FLF	GEN	TET	TMT/SUL
1	S	S	S	R	S	S	S	S
2	S	S	S	S	S	R	S	S
3	S	S	R	S	R	S	S	S
4	R	S	R	R	R	R	R	R
5	R	R	R	R	R	R	R	R
6	S	S	S	S	R	S	S	S

AMX: Amoxicilina, CFT: Cefotiofur, ENR: Enrofloxacin, EST: Estreptomina, FLF: Florfenicol, GEN: Gentamicina, TET: Tetraciclina, TMT/SUL: Trimetoprim Sulfametoxazol.

Los resultados de la PCR confirmaron la presencia del gen *eaeA*, que codifica la proteína íntima, en las seis cepas de *Escherichia coli* aisladas. Este gen indica la presencia de cepas patógenas en la materia fecal de las aves muestreadas. Además, el gen *eaeA* está implicado en los mecanismos de adhesión y daño celular.

## Conclusión

La evidencia obtenida sugiere que la materia fecal de las aves silvestres en las plazas de Córdoba y zonas aledañas, podría contener cepas de *Escherichia coli* resistentes a uno o más antibióticos, lo que representa un factor de riesgo zoonótico, especialmente para los niños que frecuentan estos espacios recreativos. Es

fundamental ampliar los estudios microbiológicos, incrementando el tamaño de muestra, ya que actualmente constituye una limitación del estudio. Este trabajo representa el primer reporte regional sobre el aislamiento de *Escherichia coli* multirresistente en materia fecal de aves silvestres en áreas públicas.

## Bibliografía

1. Horn Vasconcelos R, Teixeira RS de C, Goes da Silva IN, Lopes ES, Maciel WC. Feral pigeons (*Columba livia*) as potential reservoirs of *Salmonella* sp. and *Escherichia coli*. *Arq Inst Biol.* 2018; 85:1-6. DOI: 10.1590/1808-1657000412017.

2. Freire S, Grilo T, Poirel L, Aires-de-Sousa M. Urban pigeons (*Columba livia*) as a source of broad-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* in Lisbon, Portugal. *Antibiotics.* 2022; 11:1368. DOI: 10.3390/antibiotics11101368.

3. Ahmed NA, Gulhan T. Determination of antibiotic resistance patterns and genotypes of *Escherichia coli* isolated from wild birds. *Microbiome.* 2024; 12(1):8. DOI: 10.1186/s40168-023-01729-1.

4. Cunha MPV, Oliveira MVC, Oliveira MGX, Menão MC, Knöbl T. CTX-M-producing *Escherichia coli* isolated from urban pigeons (*Columba livia domestica*) in Brazil. *J Infect Dev Ctries.* 2019;13(11):1052-1056. DOI: 10.3855/jidc.11441.

5. World Health Organization (WHO). Critically important antimicrobials for human medicine:

ranking of antimicrobial agents for risk management of antimicrobial Cleaveland S. A framework for evaluating animals as sentinels for infectious disease surveillance. *J R Soc Interface.* 2007;4(16):973-84.

6. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 12th ed. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.

7. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 14.0, 2024. Available from: [www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Breakpoint\\_tables/v\\_14.0\\_Breakpoint\\_Tables.pdf](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_14.0_Breakpoint_Tables.pdf). Acceso Septiembre 2024.

8. Carlos N, Tafur E, Solano E, Alcázar P. Enterobacteriaceae in rock dove *Columba livia* in the city of Lima, Perú. *Salud y Tecnología Veterinaria.* 2016; 4(1):9-14. DOI: 10.20453/stv.v4i1.3082

9. Capita R, Cordero J, Molina-González D, Igrejas G, Poeta P, Alonso-Calleja C. Phylogenetic diversity, antimicrobial susceptibility and virulence characteristics of *Escherichia coli* isolates from pigeon meat. *Antibiotics.* 2019;8(4):259. doi:10.3390/antibiotics8040259.

