Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Facultad de Medicina
Licenciatura en Biomedicina
Eje de Microbiología
ICUAP
Centro de Investigación
en Ciencias Microbiológicas

TESIS

Análisis de determinantes de patogenicidad de cepas de *Escherichia coli* aisladas de infecciones de tracto urinario

Tesis presentada para obtener el título de

Licenciado en Biomedicina

Presenta
Marco Antonio Ibarra Valencia

Margarita María de la Paz Arenas Hernández
Directora de Tesis

Abraham Medrano-López
Co-director de Tesis

Puebla, Pue. Noviembre 2015

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Facultad de Medicina
Licenciatura en Biomedicina
Eje de Microbiología
ICUAP
Centro de Investigación
en Ciencias Microbiológicas

TESIS

Análisis de determinantes de patogenicidad de cepas de *Escherichia coli* aisladas de infecciones de tracto urinario

Que para obtener el título de:
Licenciado en Biomedicina

Presenta el alumno:
Marco Antonio Ibarra Valencia

Directora de Tesis:
Margarita María de la Paz Arenas Hernández

Co-director de Tesis:
Abraham Medrano-López

Puebla, Pue. Otoño 2015

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA.

FACULTAD DE MEDICINA.
COORDINACIÓN DE EFICIENCIA TERMINAL EN PREGRADO

FORMATO "B" DE AUTORIZACIÓN DE PROTOCOLO.
LICENCIATURA EN BIOMEDICINA.

DATOS DEL SOLICITANTE.
Nombre Completo: Marco Antonio Ibarra Valencia Matricula: 201008724
Correo Electrónico: marco.ibvl@gmail.com Teléfono: 2224232391

Firma: _____

TÍTULO DE LA TESIS: Análisis de determinantes de patogenicidad de cepas de *Escherichia coli* aisladas de infecciones de tracto urinario

ÁREA: ciencias de la Salud

Director Experto de la Tesis: Margarita María de La Paz Arenas Hernández No. de Trabajador: 100141466

Teléfono: 222191060 Correo Electrónico: maguie10@gmail.com

Firma: _____

Director Metodológico de la Tesis: Abraham Medrano López No. de Trabajador: _____

Teléfono: 2221405180 Correo Electrónico: medlop@unam.ibt.mx

Firma: _____

REVISIÓN DEL PROTOCOLO:

Es responsabilidad de los asesores de la tesis guiar al estudiante en la aplicación rigurosa de la Metodologia Científica de Investigación en relación al problema que se estudia.

Firma del Director Metodológico que revisó el Protocolo: _____ Fecha de Revisión: 15/Junio/15

Firma del Revisor que examinó el Protocolo: _____ Fecha de Revisión: 15/Junio/2015

Firma del Coordinador de Eficiencia Terminal en Pregrado: _____
Fecha de Revisión: 17/06/2015

Fecha de Revisión del Comité de Investigación: 05.10.2015

Al final de estos trámites la Coordinación de Eficiencia Terminal en Pregrado, enviará el Proyecto al Comité de Investigación de la FMBUAP y una vez expedido el Dictamen de Protocolo de Investigación, podrá autorizar la elaboración de la Tesis.

Coordinador de Eficiencia Terminal en Pregrado

27-10-2015
Fecha de Autorización

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE MEDICINA
EFICIENCIA TERMINAL
Sello
1578

Antes que nada y como primer opinión de esta tesis quisiera agreadecer a mi mamá y a mi papá que siempre me han cuidado desde el día en que se enteraron de mi existencia, y es que, si no fuera por ellos, seguiría siendo un montón de polvo que vaga por el mundo, a ellos quisiera dedicarles este trabajo que fue causa de tantos *'¿¡Por qué llegas tan tarde!?'*. También quisiera agradecer a mi hermana, que junto con sus tazas de café son parte importante de mi vida. Junto a ellos hay que mencionar al genial equipo que hicieron la DC. Margarita Arenas y el cDC. Abraham Medrano que creyeron en mi para realizar este proyecto y que siempre estuvieron detrás de mi guiándome, aconsejándome y en un principio poniéndome bajo la tutela de Karen quien tuvo la mala suerte de tener que enseñarme a ser un biome respondable. De igual forma quedo agradecido con el DC. Luis Javier Martínez y con la DC. Patricia Lozano que contribuyeron al desarrollo de esta tesis con sus valiosas opiniones.

Fuera de este grandioso grupo de trabajo tengo que agradecer a mis tíos Miguel y Jose Luis por el apoyo brindado y a mis abuelitos por siempre echarme porras.

Se agradece también a la misteriosa amabilidad de Mac para ayudarme con el papeleo que tuvo que hacerse, y a los Doctores del Centro de Investigaión en Ciencias Microbiológicas que me dieron clase durante el tiempo que estuve ahí, así como a otros Doctores que tuve como profesores durante mi formación temprana pero que seguramente no leerán mi tesis porque *'Los bichos no existen'*, también a Vero por siempre hacerme reír y a la contadora por siempe ser tan amable conmigo. Finalmente cabe mencionar a los compañeros que he tenido a lo largo de estos cinco años de biomedicar, como Denisse, con quien formé la mejor generación de biomes microbiólogos, o los biomes 2012 que aceptaron a mi espíritu vagabundo en su grupo y a ese pequeño grupo de Biomes 2014 con los que me he divertido particularmente, en fin, fue genial conocer a toda esta gente, ya fuera en clases, en el laboratorio, en rugby o solo por ser amigos de un amigo. Todos que día a día me demuestran que la vida es una caja de bombones.

Pero bueno, *'La ciencia es primero'* así que cambia de página.

Indice

Resumen 1

Tabla de abreviaturas 2

Introducción 3

Mecanismo de infección 5

Factores de virulencia 7

Flagelo. 9

Adhesinas. 10

Fimbrias. 10

Aerobactina. 11

iutA. 12

CNF-1. 12

Hemolisina. 12

Toxina autotransportadora secretada (Sat). 12

Toxina autotransportadora vacuolizante (Vat). 13

Serología 13

Filogenia 14

Tratamiento 15

Resistencia a antibióticos 16

Antecedentes generales 18

Antecedentes específicos 20

JUSTIFICACIÓN 24

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 25

HIPÓTESIS 26

Objetivos 27

Objetivo general 27

Objetivos Particulares 27

Objetivos específicos 27

Bioética 28

Esquema General de Trabajo 30

Material y Métodos 31
Material Biológico 31
Extracción de DNA cromosomal 31
Determinación del grupo filogenético. 32
Determinación de perfiles de susceptibilidad a antibióticos. 35
Detección de Genes de virulencia 37
Resultados 40
Datos Epidemiológicos 40
Serotipificación de *E. coli* 43
Determinación de patotipos 44
Grupo filogenético 45
Perfiles de susceptibilidad a antibióticos. 47
Detección de genes de virulencia 51
Características de cepas aisladas de pacientes con infecciones recurrentes 58
Análisis de la resistencia a antibióticos por grupo filogenético 58
Análisis de resistencia a antibióticos y genes de virulencia 62
Análisis de los genes de virulencia y grupo filogenético 63
Análisis de presencia de genes de virulencia y la resistencia a antibióticos 68
Discusión 70
Conclusiones 79
Perspectivas. 80
ANEXO A) Resistotipos encontrados en las cepas analizadas 81
ANEXO B Patrones de variabilidad de presencia de los genes de virulencia 83
ANEXO C. Características generales de las 171 cepas de *E. coli* 84
Bibliografía 91

Resumen

Las infecciones de tracto urinario (ITU) es una de las principales causas de visita al médico a nivel mundial. *Escherichia coli* Uropatógena (UPEC) es el principal agente causa de ITU, siendo responsable de más del 80% de estas. UPEC cuenta con diversos factores de virulencia que participan en la adhesión, movilidad, captación de nutrientes, toxinas y mecanismos de evasión de la respuesta inmune. *E. coli* se clasifica en cuatro filogrupos A, B1, B2 y D estos dos últimos asociados a cepas extraintestinales y virulentas. En este estudio analizamos los determinantes de patogenicidad de 171 cepas de *E. coli* aisladas de pacientes pediátricos hospitalizados con ITU. Las cepas se aislaron principalmente de pacientes del sexo femenino, el servicio médico del que se aislaron más cepas fue nefrología y los meses en los que se recolectaron más cepas fueron Abril, Junio y Octubre. Los serotipos más frecuentes fueron O25:H4, O102:H6, O1:H6 y O6:H1 todos asociados a UPEC, también se encontraron serotipos típicos de DEC, así como a serotipos no asociados a ningún patotipo. En la clasificación filogenética hay predominio de cepas del grupo B2, seguido por el grupo A y D y en menor proporción el grupo B1. En la determinación de perfiles de susceptibilidad a antibióticos las cepas fueron resistentes principalmente a cefalosporinas de 1a y 2a generación, cloranfenicol, ampicilina y Trimetoprim/Sulfametoxazol. La nitrofuratoína se puede todavía considerar en el tratamiento de primera elección para el 65% de las cepas. El 99% de las cepas fueron multirresistentes. Los genes de virulencia se encontraron con la siguiente frecuencia: la adhesina fimbrial 84% de las cepas, la adhesina/receptor de hierro 60%, flagelo (fliC) están en el 17%, la aerobactina 53%, la toxina autotransportadora vacuolizante 12%, la toxina autotransportadora secretada en su región autotransportadora (satA) está en el 22% de las cepas. Los alelos papGII y papGIII están presentes en el 10% y 7% de las cepas respectivamente, el 5% de las cepas presentaron ambos alelos. El 5% de las cepas no amplificaron ninguno de los genes de virulencia buscados. En hombres predominan los filogrupos D y B2, mientras que en mujeres predominan los grupos A y D. De igual forma las cepas aisladas de hombres presentaron una mayor resistencia a a antibióticos que aquellas que fueron aisladas de mujeres. No se observó que alguno de los grupos filogenéticos presentara una amplia diferencia con respecto de los otros en cuanto a susceptibilidad a antibiòticos, sin embargo, sí se encontrò que hubo una menor frecuencia de cepas del filogrupo B2 resistentes a aminoglucósidos, cefalosporinas de 3ª generación, quinolonas y nitrofurantoina. En cuanto a la relación entre genes de virulencia y susceptibilidad a antibióticos se encontró que las cepas con menor número de genes de virulencia son resistentes a un mayor número de antibióticos.

Tabla de abreviaturas

Abreviatura	Significado
°C	Grados Centígrados
µg/ml	Microgramo sobre mililitro
µL	Microlitro
AM	Ampicilina
AMK	Amikacina
AN	Ácido Nalidíxico
ATCC	American Type Culture colection
BET	Bromuro de etidio
BLEE	B-lactamasa de espectro extendido
C	Cloranfenicol
CBI	Colonia Bacteriana Intracelular
CF	Cefalotina
CFX	Cefuroxima
CFZ	Ceftazidima
CIP	Ciprofloxacino
CLSI	Clinical Laboratory Standars Institute
CRO	Ceftriaxona
CTX	Cefotaxima
DAEC	*Escherichia coli* Difusoadherente
DEC	*Escherichia coli* Diarreogénica
DO	Densidad óptica
EAEC	*Escherichia coli* Enteroagregativa
EGM	Elemento genético móvil
EHEC	*Escherichia coli* Enterohemorrágica
EIEC	*Escherichia coli* Enteroinvasiva
EPEC	*Escherichia coli* Enteropatógena
ETEC	*Escherichia coli* enterotoxigénica
ExEC	*Escherichia coli* extraintestinal
FV	Factor de virulencia
GM	Gentamicina
hr	Horas
IDSA	*Infectious Diseases Society of America*
IgA	Inmunoglobulina A
IP	Isla de patogenicidad
ITU	Infección de tracto urinario
ITUr	Infección de tracto urinario recurrente
LVX	Levofloxacino
M	Molar
MDR	Multidrogo resistente
min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mM	Milimolar
NET	Netilmicina
NF	Nitrofurantoina
ng	Nanogramo
nm	Nanómetro
NMEC	*Escherichia coli* asociada a meningitis
NOR	Norfloxacino
OFX	Ofloxacino
Pb	Pares de bases
PCRm	Reacción en cadena de Polimerasa múltiple
PMN	Polimorfonuclear
RN	Recien nacido
RPM	Revoluciones por minuto
RVU	Reflujo vesico-ureteral
SAT	Toxina transportadora secretada
SDS	Dodecil sulfato de sodio
seg	Segundo
SET	Sacarosa-EDTA-Tris
Tm	Temperatura de alineamiento
TSX	Trimetoprim/Sulfametoxazol
U/µL	Unidades sobre microlitro
UFC	Unidades formadoras de colonias
UPEC	*Escherichia coli* Uropatógena
UV	Ultravioleta
VAT	Toxina Autotransportadora Vacuolizante

Introducción

Las infecciones de tracto urinario se presentan en todas las edades y en ambos sexos, pero predominan en niños menores de un año, incluyendo al recién nacido (RN), mujeres de entre 22 y 44 años, gente de la tercera edad y en pacientes con anomalias estructurales o neurológicas del tracto urinario, principalmente reflujo vesico-ureteral (RVU). Los microorganismos causantes de Infección de tracto urinario (ITU) son principalmente aquellos que pertenecen a la microbiota intestinal y que infectan a las vías urinarias mediante la contaminación del espacio periuretral para abrirse paso hasta colonizar la uretra y subsecuentemente migrar hacia la vejiga en donde expresan mecanismos de patogenicidad que les permiten establecerse o desplazarse hasta riñón y posteriomente causar una sepsis (Díaz *et al.,* 2007; Fernández *et al.*, 2008).

Ante la presencia de microorganismos infectantes, el tracto urinario trata de evitar ser colonizado o disminuir la intensidad de la infección mediante el aumento del flujo de orina o la descamación del uroepitelio además de estimular la secreción de compuestos químicos entre los que se encuentran la proteína Tamm-Horsfall, la IgA secretada, péptidos antimicrobianos como la lactoferrina, defensinas, catelicidinas y la activación de células polimorfomucleares del sistema inmune (Marrs *et al.,* 2005; Chromek *et al.,* 2008). Las ITU pueden volverse recurrentes (ITUr) dependiendo de diversos factores como la capacidad de la bacteria para colonizar al hospedero, la aplicación de un tratamiento inadecuado, el estado inmunológico y la anatomía del individuo (Mysorekar *et al*., 2006).

Durante el 2007 las infecciones de tracto urinario causaron 8.6 millones de visitas al médico en Estados Unidos (Schappert *et al.,* 2011). Las ITU son frecuentes en recién nacidos, principalmente en varones, siendo la causa del 5 al 14% de las consultas pediátricas al año. Sin embargo, al llegar a la edad adulta las mujeres de entre 20 y 50 años se convierten en la población más susceptible, calculándose que del 50 al 60% de las mujeres sufrirán de una ITU a lo largo de su vida, pero solo el 12% de los hombres adultos se verán afectados por una. La predisposición que tienen las mujeres hacia estas infecciones se da por la corta distancia de la

uretra a la región anal además de otros factores anatómicos como son deficiencias del vaciado de la vejiga, la mala higiene, reflujo vesico-uretral y otras anomalías anatómicas. En el caso de los hombres, estos no suelen verse afectados por infecciones sintomáticas o bacteriurias asintomáticas hasta antes de los 50 años. Mientras que, en pacientes de edad avanzada, las ITU's representan un grave riesgo de bacteremia y muerte (Foxman *et al.,* 2003; Kasper *et al.,* 2005; Horowitz *et al.,* 2007; Caterino *et al., 2008;* Tracy 2009). En México, las ITU's se encuentran entre los 10 primeros motivos de consulta al médico familiar y durante el 2013 representaron la tercera causa de morbilidad en pacientes ambulatorios, siendo las mujeres de entre 22 y 44 años la población más susceptible (SALUD, 2009; DGE, 2013). El 30% de las ITU adquiridas en el hospital están asociadas al uso de catéteres (SALUD, 2009).

Algunos de los factores que influyen en la infección son localización anatómica, si la adquisición fue en la comunidad o dentro de un hospital, fomites, factores asociados (si existe una enfermedad previa), gravedad de la infección, presentación clínica y características de virulencia del organismo infectante (Jiménez *et al.,* 2011). Con base en su localización anatómica las ITU se dividen en infecciones de vías urinarias bajas (uretritis, cistitis y prostatitis) y de vías urinarias altas (pielonefritis). También se clasifican con base en su complicación y la presencia de pielonefritis: infección no complicada de la vía inferior (cistitis), pielonefritis no complicada, ITUs complicadas con o sin pielonefritis, sepsis urinaria, uretritis y especiales (prostatitis, epididimitis y orquitis). A su vez se considera la duración de la infección (aguda o crónica) y si es sintomática o asintomática (Barragan *et al.,* 2005; Fernández *et al.,* 2008; Arenas *et al.,* 2012; Rendón *et al.*, 2012). En ocasiones el hospedero no desencadena una respuesta inmune contra el microorganismo invasor y se produce una infección asintomática (Chromek *et al.,* 2008).

De todos los microorganismos Gram negativos, Gram positivos y fúngicos que causan ITU, el principal agente etiológico es *Escherichia coli* dado que posee la

capacidad de invadir, sobrevivir y multiplicarse dentro del tracto urinario (Mysorekar *et al*., 2006; Flores *et al.,* 2015).

E. coli tiene un papel importante como bacteria comensal del aparato digestivo en el ser humano, sintetizando vitaminas y participando en el efecto barrera del intestino. Algunos subconjuntos de *E. coli* son capaces de desarrollar infecciones intestinales (*E. coli* enterodiarreagénicas, DEC) y enfermedades extraintestinales (ExEC). Entre las DEC, encontramos a los patotipos: enteropatogénica (EPEC), enterohemorrágica (EHEC), enterotoxigénica (ETEC), enteroagregativa (EAEC), difusoadherente (DAEC) y enteroinvasiva (EIEC), mientras que en las ExEC encontramos a *E. coli* asociada a meningitis (NMEC) y a *E. coli* uropatógena (UPEC). A diferencia de las DEC, las UPEC no se han diferenciado en patotipos, por lo que cualquier *E. coli* que infecte vías urinarias es considerada uropatógena (Marrs *et al.,* 2005). A pesar de ser una bacteria extracelular, UPEC tiene la capacidad de invadir capas internas del uroepitelio favoreciendo su establecimiento, persistiendo dentro del hospedero y desarrollando ITU crónicas (Navidinia *et al.* 2014). UPEC es responsable de más del 80% de ITU en pacientes ambulatorios y del 50% de las infecciones nosocomiales (Chromek *et al.,* 2008; Gupta *et al.,* 2011; Fatima *et al.,* 2012).

Mediante la adquisición de elementos genéticos móviles (EGM), como plásmidos, bacteriófagos o islas de patogenicidad, las cepas comensales de *E. coli* han adquirido factores de virulencia y genes de resistencia a antibióticos La comprensión de las diversas vías moleculares usadas por todos estos patotipos para causar enfermedad favorece el planteamiento del desarrollo de métodos diagnósticos o terapéuticos (Wiles *et al.,* 2008; Marrs *et al.,* 2005)

Mecanismo de infección

UPEC tiene la habilidad de colonizar el tracto urinario mediante la expresión coordinada de diversos factores de virulencia, que junto con las condiciones inmunológicas del hospedero, facilitan el desarrollo de un proceso patogénico

(Kausar *et al.,* 2009, Fakruddin *et al.,* 2013). El mecanismo de patogenicidad empleado por los uropatógenos se basa en la adhesión e invasión del epitelio vesical, acompañado de su supervivencia mediante la evasión a la respuesta inmune, secuestro de nutrientes del hospedero y el daño al mismo mediante el uso de toxinas, posteriormente el microorganismo migra através de los uréteres hasta llegar a riñón en donde nuevamente expresa factores de adhesión y toxinas, las cuales alteran al uroepitelio permitiendo la diseminación bacteriana por el torrente sanguíneo, *E. coli* puede causar daño renal vía retrógrada o sanguínea (Chromek *et al.* 2008; Bien *et a*l., 2012; Basu *et al.,* 2013).

El primer paso para iniciar la infección consiste en la adhesión de UPEC mediante la fimbria tipo 1 a los receptores de manosa que recubren al epitelio vesical, con lo que se promueve la formación del biofilm, la formación de comunidades bacterianas intracelulares (CBI) y la invasión celular, estas acciones le brindan resistencia a antibióticos, a la fagocitosis y le permitirá intercambiar genes de virulencia mediante EGM's (Soto *et al.* 2007), además de desencadenar la respuesta inmune del hospedero. Existen otros factores en la superficie de UPEC que participan en la colonización, tales como: fimbrias P, F1C, S y Afa, fimbrias rizadas, proteínas autotransportadoras (p. ej. Ag43, UpaH), TosA y el flagelo (Ulett *et al.,* 2013: Flores *et al.,* 2015). Una vez establecida en la vejiga, la bacteria puede expresar el flagelo para ascender por los uréteres y llegar a riñón (Lane *et al.,* 2007; Pichon *et al.,* 2009). Cuando llega a riñón expresa el pili P el cual se une a los receptores Gal(α1–4) Galβ presentes en la membrana celular del epitelio renal. Es aquí en donde UPEC secreta toxinas que dañan al epitelio renal, entre las que se encuentra la hemolisina la cual participa en la lisis celular para obtener nutrientes como el hierro, que es usado por UPEC para su crecimiento y supervivencia causando daños al epitelio renal e induciendo oscilaciones de Ca^{+} y aumentando la producción de IL-6 y IL-8 las cuales provocan la transmigración de leucocitos polimorfonucleares y respuesta proinflamatoria. Otra toxina que participa en el daño renal es el factor citotóxico necrotizante tipo 1 (CNF-1) que es

una Rho-GTPasa que promueve la invasión de UPEC a las células del huésped. La acción conjunta de hemolisina, CNF-1 y las toxinas autotransportadoras secretada (SAT) y vacuolizante (VAT) dañan a la barrera tubular al grado de que UPEC puede entrar a torrente sanguíneo y causar bacteremia. (**Figura 1**) (Kaper *et al.,* 2004; Lane *et al.,* 2007; Ulett *et al.,* 2013).

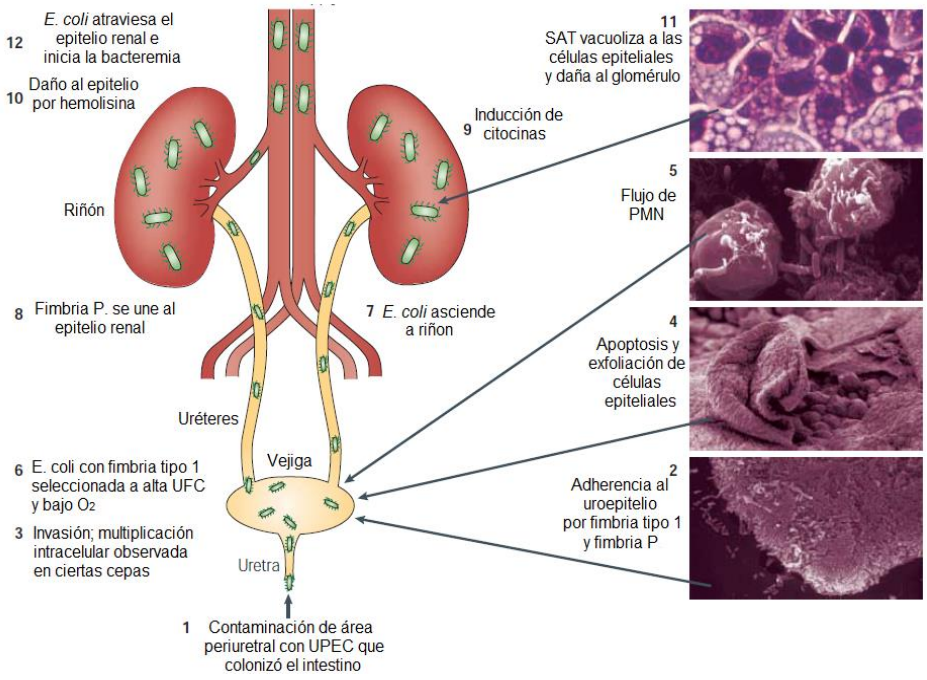


Figura 1. Esquema representativo del mecanismo de patogenicidad de UPEC. Modificado de Kaper *et al.,* 2004.

Factores de virulencia

Para llevar a cabo su mecanismo de patogenicidad *E. coli* cuenta con diversos factores de virulencia que participan en la adhesión (adhesina fimbrial tipo 1, pili P (o Pap), fimbria S, Afa /Dra), en la adquisición de nutrientes (aerobactina), en la evasión de la respuesta inmune (cápsula y Lipopolisacárido), en el daño a la célula hospedero (hemolisina, CFN-1) (**Figura 2**) (Chromek *et al.,* 2008; Basu *et al*., 2013; Sarkar *et al*., 2014).

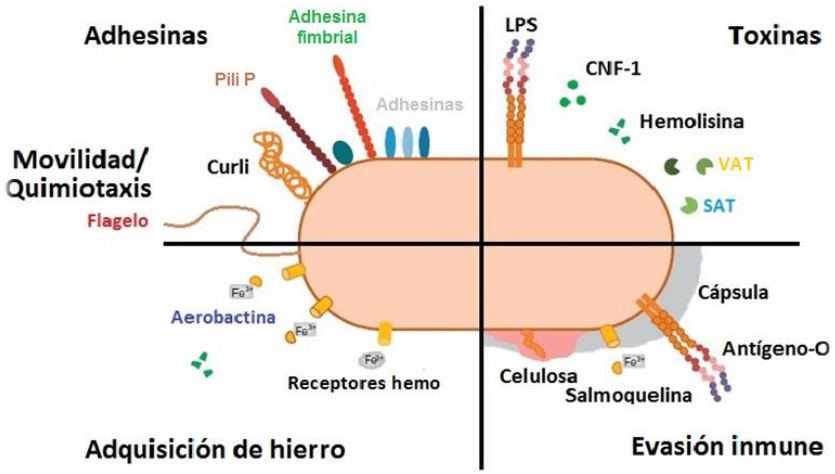


Figura 2. Factores de virulencia de UPEC. Modificado de Luthje *et al.,* 2014.

La virulencia que distingue a cepas patógenas de las comensales se determina por la presencia y expresión de genes que codifican para factores de virulencia (Kausar *et al.,* 2009). Los genes que codifican para estos, ya sean toxinas, adhesinas o invasinas, pueden ser parte de EGM's (transposones, plásmidos o bacteriófagos, etc.) y a su vez estos pueden encontrarse en zonas determinadas del genoma conocidas como Islas de patogenicidad (IP o PAI por sus siglás en inglés). Estos elementos cromosomales suelen tener un tamaño mayor a 10 Kb, se encuentran delimitados por genes de movilidad, estan asociados a genes de tRNA, están flanqueadas por secuencias repetidas, suelen ser inestables y tener un contenido carácterístico de Guanina y Citocina. Las IP's suelen estar únicamente en cepas patógenas (Oelschlaeger *et al.,* 2002).

Se ha reportado la presencia de varias islas de patogenicidad específicas en las diferentes cepas de UPEC (536, J96 y CFT073). Algunas cepas de *E. coli* presentan más de una PAI, por ejemplo, la cepa J96 (O4:K6) cuenta con las islas PAI I_{J96} y PAI II_{J96} (Smith *et al.,* 2008). Esto arma a UPEC de los mecanismos que le convierten en el principal causante de ITU, (Oelschlaeger *et al.,* 2002; Naveen *et al*., 2005; Murray *et al.,* 2007; Slavchev *et al.,* 2008; Arenas *et al*., 2012).

UPEC cuenta con factores de virulencia específicos para su patogenicidad, tal es el caso de la hemolisina que causa desprendimiento del uroepitelio y hemorragias en vejiga, de igual forma la aerobactina codificada por los genes *iucABCD* y que en conjunto con el receptor proteínico *iutA* actúan como los principales sideróforos producidos principalmente por cepas de *E. coli* aisladas de ITU y que participa en el secuestro de hierro libre del hospedero para promover su crecimiento (Carbonetti *et al.,* 1984; Bindereif *et al.,* 1985; Basu *et al.,* 2013).

Algunos factores de virulencia se expresan en sincronía con otros, como es el caso de la Hemolisina y CNF-1 o el de la Fimbria tipo 1, el flagelo y el pili Pap. De igual forma se ha observado que cepas productoras de hemolisina tienen una mayor habilidad para producir biopelícula. La diversidad de condiciones que atraviesa UPEC durante la infección urinaria puede ser la razón de esta asociación entre los diversos factores de virulencia (Tiba *et al.,* 2008; Tabasi *et al.,* 2015). De igual forma, UPEC puede interferir en la señalización de leucocitos polimorfonucleares (PMN) e inhibir la producción de especies reactivas de oxigeno que son usadas por los PMN como bacteriostáticos. Con esto UPEC logra sobrevivir en los tejidos, para continuar con su multiplicación y así colonizar el sitio de infección (Loughman *et al.,* 2011).

A continuación, se describen los principales factores de virulencia usados por UPEC:

Flagelo. Es el apéndice involucrado en la movilidad de UPEC, está compuesto de diversas subunidades de flagelina codificada por el gen *fli*C; la expresión del flagelo es regulada por condiciones ambientales, esto permite que el microrganismo se desplace ascendentemente de vejiga a través de los uréteres hasta llegar a riñon. La migración de UPEC hacia el riñon complica el cuadro clínico y la patogénesis de la enfermedad, la cual evoluciona a pielonefritis (Lane *et al.,* 2007).

Adhesinas. Le confieren la capacidad de adherirse al uroepitelio y así evitar ser eliminada por el arrastre de la orina. *E. coli* tiene adhesinas asociadas a fimbrias (tipo 1, P y S) como la F1845, Dr, Dr-ii, Afa-3 y adhesinas no relacionadas con fimbrias (afimbriales) como Afa1, Afa3 e Iha este último también funciona como proteína receptora de hierro (Mulvey *et al.,* 2002; Arenas *et al.,* 2012).

Fimbrias. Las fimbrias de *E. coli* asociadas a virulencia son la fimbria tipo 1 y la fimbria P (Pap). Estas se encargan de reconocer receptores específicos del uroepitelio para así iniciar su colonización y/o invasión.

Existen otras fimbrias implicadas en la diseminación bacteriana dentro del uroepitelio del hospedero, como la fimbria S y el desarrollo de pielonefritis crónica como la fimbria Dr (Slavchev *et al*., 2008; Arenas *et al*., 2012).

Fimbria tipo 1. Es altamente expresada en cepas de UPEC, participa en la adhesión y colonización de UPEC, además de afectar de forma inversa la expresión de Pap (Snyder *et al*., 2005). Es codificada por el gen *fim.* Contiene la adhesina FimH, la cual está a lo largo y en el extremo de la fimbria. Se ha encontrado tanto en cepas patógenas como en comensales. FimH Reconoce residuos α-D-manosilados de uroplaquina Ia y IIIa de la superficie del uroepitelio. La unión a estos receptores provoca el inicio de una cascada de fósforilación que causa apoptosis y un aumento en los niveles de Ca^{+} intracelular. Tambien reconoce a receptores α3, β1-integrinas para promover la invasión bacteriana. Estos eventos traen consigo el desarrollo de inflamación, muerte celular intrínseca y extrínseca, que puede deberse al efecto inflamatorio de los receptores tipo Toll del uroepitelio o a la descamación vesical y la posible colonización por parte de *E. coli*, e incluso preparan el escenario para la formación de biopelícula. Para defenderse de esto, el uroepitelio inicia un proceso de exfoliación mediante mecanismos similares a la apoptosis (Bien *et al.,* 2012; Ulett *et al.,* 2013).

Fimbria P o Pap. Es un heteropolímero compuesto de proteínas expresadas por el operon *papA-K* (Hull *et al*., 1981). Posee 3 tipos de adhesinas (I a III) en sus

extremos, las cuales les permiten unirse a receptores α-D-galactopiranosil1-(1-4)-β-D-galactopiranosido expresados en la superficie del epitelio urinario. Esta unión provoca la liberación de citocinas y la activación del Receptor tipo Toll 4 (TLR4), desencadenando con ello toda una serie de procesos bioquímicos que conducen a inflamación característica de las ITU's.

La adhesina más abundante es la tipo II, esta reconoce receptores sobre el epitelio vesícal y renal; seguida por la III, que tiene un tropismo por epitelio renal. Aunque algunas cepas expresan ambasadhesinas, siendo la tipo I rara vez encontrada, cada adhesina tiene un isoreceptor específico (Leffler *et al*., 1980; Le Bouguenec *et al.,* 1992; Lane *et al.,* 2007; Bien *et al.,* 2012; Totsika *et al.,* 2012).

Las cepas deficientes de ambas fimbrias producen una fimbria adicional llamada F1C, la cual está estrechamente relacionada con la fimbria S y se cree contribuye en la colonización y permite que *E. coli* se disemine a otros tejidos y cause sepsis, meningitis e ITU's ascendentes. Existen otras fimbrias menos estudiadas como la Afa/Dr, la fimbria F9, la fimbria tipo 3 y la fimbria Auf (Snyder *et al*., 2005; Bien *et al.,* 2012; Totsika *et al.,* 2012).

Iha. Proteína de adherencia relacionada a islas de patogenicidad, homóloga a una variedad de proteínas de adquisición de hierro (p.ej. IrgA de *Vibrio cholerae*) Se especula que participa en la patogenicidad de UPEC (Tarr *et al.,* 2000).

ECP. El pili común de *E. coli* se ha reportado en cepas comensales y patogénas de *E. coli.* Interactua con el epitelio del hospedero, favoreciendo así su colonización. Además de favorecer la formación de biopelículas (Martínez *et al*., 2012).

Aerobactina. Es un sideróforo asociado con cepas de *E. coli* causantes de cistitis y pielonefritis (Carbonetti *et al*., 1986), ya que le permite sobrevivir en medios escasos de hierro tales como orina y suero (Montgomerie *et al.,* 1984). Sus determinantes genéticos se han encontrado más frecuentemente en cromosoma

que en plásmidos. Se ha propuesto que existe una relación entre la presencia de aerobactina junto con la Fimbria P y la hemolisina que proveen a la bacteria de características de resistencia a fármacos (Johnson *et al*., 1988; Tiba *et al.,* 2008).

iutA. El receptor férrico de aerobactina es una proteína de 75 kDa con actividad lectina, se le ha asociado con algunas cepas virulentas de *E. coli*, principalmente con UPEC participando en el proceso de colonización, aunque su papel en la virulencia se ha puesto en duda recientemente (Landgraf *et al.,* 2012).

CNF-1. El factor de necrosis citotóxica tipo 1 es una toxina que activa Rho GTPasas. Se ha relacionado su producción a la de hemolisina, ya que ambos se encuentran frecuentemente en infecciones por ExPEC. Se sugiere que CNF-1 proporciona a UPEC resistencia a ser fagocitada por neutrófilos, lo que aumenta su capacidad de invadir tejidos más profundos y así persistir en las vías bajas del tracto urinario (Caprioli *et al*., 1987; Rippere *et al.,* 2001).

Hemolisina. Toxina tipo RTX (del inglés Repeats in Toxins) extracelular, característica de diversos patógenos Gram negativos encontrada en ExPEC y particularmente en UPEC. Es codificada por el operon *hly*DABC. Crea poros celulares, principalmente en el eritrocito con la consiguiente liberación de hierro (Lally *et al.,* 1999; Smith *et al.,* 2008).

Toxina autotransportadora secretada (Sat). Es una serín proteasa de alto peso molecular miembro de la familia SPATE (Serine Proteases Autotransporter from *Enterobacteriaceae*) asociada a UPEC causante de pielonefritis, tiene actividad citopática en vejiga y riñón mediante la formación de vacuolas en el citoplasma de las células epiteliales del tracto urinario. Su actividad proteasa tiene efecto en el citoesqueleto de las células de la vejiga causando así alteraciones morfológicas. Experimentalmente se le ha involucrado con daño histológico a nivel de glomérulo y túbulos proximales además de influir fuertemente en la respuesta inmune. (Guyer *et al.,* 2000; Guyer *et al.,* 2002; Arenas *et al.,* 2012).

Toxina autotransportadora vacuolizante (Vat). Es una proteína de 148 kDa y está codificada por el gen *vat* el cual es parte de los genes localizados en PAIs y de la misma forma que Sat, es miembro de la familia SPATE. Vat induce la formación de vacuolas intracelulares, lo que desemboca en citotoxicidad. (Parham *et al*., 2005).

Serología

La clasificación serológica de cepas de *E. coli* se basa en la presencia del lipopolisacárido (antígeno O), la cápsula (Antígeno K) y el flagelo (antígeno H), siendo el más representativo el antígeno O, ya que la protege de la fagocitosis e inhibe la unión del complemento. Se han reportado más de 180 variaciones del antígeno O. Durante el estudio de estas cualidades serológicas, se ha observado una asociación entre dichas cualidades y el patotipo de *E. coli*, aunque esta asociación no se tiene bien comprendida. Ciertos serotipos son consistentes con cepas de UPEC (Fatima *et al.,* 2012). Entre los serogrupos asociados a UPEC se encuentran: O1, O2, O4, O6, O7, O8, O16, O18, O25 y O75, sin embargo, algunos antígenos somáticos muestran menos especificidad, tal es el caso del antígeno O45, el cual se ha reportado en cepas de UPEC y de NMEC (Wiles *et al.,* 2008; Sarkar *et al.,* 2014).

El antígeno capsular K1 se ha asociado como típico de cepas de ExPEC causantes de meningitis neonatal, además de que se ha demostrado que protege a *E. coli* de la fagocitosis, sin embargo, no se ha determinado la forma en que participa en la patogénesis de UPEC, a pesar de esto sí se ha observado que las cepas que contienen a los antígenos K1 o O18 suelen expresar más factores de virulencia que otras cepas de ExPEC (Allen *et al.,* 1987; Ewers *et al.,* 2007).

El papel de antígenos flagelares específicos no ha sido bien comprendido, sin embargo, sí se ha destacado la importancia de este para el asenso de *E. coli* desde la vejiga hasta los riñones (Lane *et al.,* 2007).

Sin bien no se consideran a las ITU's como brotes comunitarios, sí se sabe que algunas clonas tienen el potencial de convertirse en uno, siendo este el caso de la cepa O25-ST131, que cuenta con una amplia gama de factores de virulencia y produce β-lactamasas de espectro extendido (BLEEs) (Molina-López *et al.,* 2011).

Filogenia

Los estudios filogenéticos han permitido clasificar a *E. coli* en 4 grupos distintos: A, B1, B2 y D (Herzer, 1990). Siendo los grupos B2 y D los principales causantes de infecciones extraintestinales, mientras que los grupos A y B1 se asocian a cepas comensales y dada su alta similitud génica se les considera como ‘‘Grupos hermanos’’, mientras que el grupo B2 se considera como el linaje ancestral de *E. coli* (Leconintre *et al.* 1998; Gordon *et al.* 2008; Bashir *et al.* 2012). Las cepas extraintestinales cuentan con factores de virulencia que les permiten sobrevivir en diversos ambientes, estos factores suelen estar ausentes en cepas comensales. Los distintos grupos difieren fenotípicamente entre ellos, algunas de estas características son su habilidad para metabolizar diferentes azúcares, sus perfiles de resistencia a antibióticos y su relación tasa de crecimiento-temperatura (Picard *et al.,* 1999; Clermont *et al.,* 2000; Navidinia *et al.,* 2014).

Otras de las características que sirven para diferenciar entre grupos es la presencia de genes de virulencia, ya que los grupos B2 y D contienen genes que les permiten colonizar el medio extraintestinal contenidos en islas de patogenicidad de las que carecen las cepas comensales o poco virulentas (Branger *et al.,* 2005).

Tratamiento

El tratamiento en las infecciones de tracto urinario tiene como objetivo erradicar la infección, prevenir daño renal y resolver los síntomas agudos, éste suele iniciarse empíricamente sin tener los resultados de un urocultivo o antibiograma, hecho que ha favorecido el desarrollo de cepas resistentes a antibióticos (Espinoza *et al.,* 2009; Guajardo *et al.,* 2009).

El tratamiento para ITU depende de varios factores, tanto del paciente como del microorganismo infectante, entre los factores provenientes del paciente están: edad, sexo, localización de la infección (ITU de vía alta o baja), e intervenciones quirúrgicas previas. Desde la aparición de cepas resistentes a antibióticos, se han tenido en cuenta factores extra para aplicar un tratamiento idóneo, tales como la duración de este y los efectos adversos al microbioma. En cuanto al microorganismo, este debe de aislarse para ser identificado y determinar a qué fármaco es sensible, una vez establecidos estos puntos se puede iniciar un tratamiento a base de β-lactàmicos, fluoroquinolonas, cefalosporinas, entre otros (Gupta *et al.,* 2011; Mandal *et al.,* 2012). En niños se aplica un tratamiento con cefalosporinas de 3ª generación (ceftibuten o cefixima) sin embargo en una ITU documentada que no presenta fiebre se opta por el uso de nitrofurantoina. En embarazadas se usa nitrofurantoina, fosfomicina y cefalosporinas de 2ª y 3ª generación. En una infección complicada se recomienda realizar estudios de laboratorio y gabinete (Calderón *et al.,* 2013). Mientras que para infecciones complicadas se recomienda un tratamiento a base de quinolonas (SALUD, 2009). El tratamiento debe de ser adecuado y oportuno para evitar complicaciones como la aparición de cicatrices renales (Salas *et al.,* 2012). En México se considera un antibiótico como tratamiento efectivo a aquél que tiene un punto de corte igual o menor a 20% en cuanto a la resistencia que puede existir hacia este según las guías de la *Infectious Diseases Society of America* (IDSA). En años recientes se han aplicado medidas para regular el uso indiscriminado de antibióticos en nuestro país ya que esto favorece la aparición de cepas resistentes dificultando su

tratamiento (Calderón *et al.,* 2013). El tratamiento con trimetoprim-sulfametoxazol ha demostrado ser eficaz por lo que también se le considera un antibiótico de primera elección. En algunos países se recomienda también el uso de fosfomicina y pivmecillinam (β-lactámico), mientras que en México se opta por el uso de fluoroquinolas como el ciprofloxacino (SALUD, 2009). De no poder aplicar un tratamiento con estos antibióticos se usan cefalosporinas de 2ª generación como cefaclor o de 3ª generación, como cefdinir o cefpodoxima proxetil. Amoxicilina y ampicilina no están recomendados dada la alta resistencia que se tiene hacia estos (Gupta *et al.,* 2011). En la pielonefritis aguda, se recomienda un tratamiento a base de fluoroquinolas, como ciprofloxacino y levofloxacina, si se comprueba que la cepa es sensible a trimetoprim sulfametoxazol, este puede ser usado en el tratamiento. (Gupta *et. al.,* 2011). Los tratamientos a base de aminoglucósidos no deben de ser utilizados debido a los efectos adversos que se han reportado, como nefrotoxicidad y ototoxicidad, pero de requerirse, netilmicina sería una buena elección debido a su baja nefrotoxicidad (Espinosa *et al.,* 2012).

Resistencia a antibióticos

Para administrar un tratamiento adecuado para cualquier tipo de infección, es necesario conocer los patrones de susceptibilidad del microorganismo infectante (Fakruddin *et al.,* 2013). Por lo general para las ITU el tratamiento es ambulatorio, sin embargo, en pacientes hospitalizados se pueden adquirir infecciones por microorganismos multirresistentes, los cuales se desarrollan a partir del uso inadecuado del tratamiento, ya sea por emplear bajas concentraciones de los fármacos, por la interrupción del mismo o por la adquisición de EGM's que contienen genes de resistencia a antibióticos; esta adquisición puede darse durante el establecimiento de *E. coli* en el tracto digestivo al convivir con microorganismos comensales, que al verse sometidos a la presencia de un antibiótico durante el tratamiento de alguna otra enfermedad se someten a un proceso de selección en el que sobreviven aquellos que codifican y expresan

genes de resistencia (Levin *et al.,* 1997; Abarca *et al.,* 2001; Branger *et al.,* 2005; Navidinia *et al.,* 2014).

La resistencia a antimicrobianos se ha reportado a nivel mundial, principalmente hacia β-lactámicos (penicilina), aminoglucósidos (amikacina), y cefalosporinas de 1ª (cefalotina) y 2ª generación (cefuroxima) (Von Baum *et al.,* 2005; Aguirre *et al.,* 2007; Lautenbach *et al.,* 2007; Mandal *et al.,* 2012). Desde 1980 se reportaron los primeros casos de bacterias productoras de β-lactamasas de espectro extendido (BLEE's) principalmente cefalosporinasas codificadas en plásmido. Estas β-lactamasas han sido responsables de infecciones nosocomiales principalmente en el área de cuidados intensivos (ICU, por sus siglas en inglés) generando una alta tasa de morbilidad (Von Baum *et al.,* 2005; Lautenbach *et al.,* 2007; Narciso *et al.,* 2011; Mandal *et al.,* 2012). La presencia de BLEE's suele venir acompañada de resistencia hacia otros antimicrobianos, como aminoglucósidos, tetraciclinas y trimetoprim sulfametoxazol ya que sus genes de resistencia se encuentran codificados en plásmidos (Branger *et al.,* 2005). A pesar de estos mecanismos de resistencia, UPEC sigue siendo sensible a Nitrofurantoina y en menor medida a ciprofloxacina y al ácido nalidíxico, lo que es de llamar la atención puesto que las fluoroquinolonas son los fármacos de elección para el tratamiento de infecciones causadas por cepas productoras de BLEE's (Naveen *et al.,* 2005; Molina *et al*., 2011; Momtaz *et al.,* 2013).

A diferencia de lo observado con la virulencia, la resistencia a antibióticos suele mostrarse más en cepas que no pertenecen al grupo filogenético B2, mientras que cepas poco virulentas y con menor capacidad invasiva pertenecientes a los grupos A y B1 presentan resistencia a fluoroquinolonas como el ciprofloxacino (Johnson *et al.,* 2002, Branger *et al.,* 2005; Kim *et al.,* 2010). También se ha demostrado que los patrones de resistencia difieren entre países, razón por la cual no se puede establecer un tratamiento universal hacia las ITU's, pero el uso correcto de antibióticos y el cumplimiento del tratamiento disminuye la aparición de cepas resistentes (Abarca *et al.,* 2001; Kausar *et al.,* 2009; Gupta *et al.,* 2011).

Antecedentes generales

A pesar de ser un miembro de la microbiota intestinal, *E. coli* también es el principal causante de infecciones urinarias en la comunidad y en pacientes hospitalizados. En México las infecciones de vías urinarias ocupan el tercer lugar de morbilidad, siendo las mujeres de entre 24 y 44 años el grupo más afectado (DGE, 2013). La principal fuente de infección es la autocontaminación, este proceso involucra el paso de cepas con propiedades particulares de resistencia a antibióticos y productoras de factores de virulencia del tracto gastrointestinal al urinario (WHO, 2014).

Actualmente la clasificación serológica de *E. coli* se basa en el reconocimiento de 185 antígenos somáticos, 56 flagelares y 60 capsulares. Los serogrupos más frecuentes en UPEC son: O1, O2, O4, O6, O17 y O75. Mientras que entre los serotipos más representativos son: O1:H4, O1:H6, O1:H7, O1:H-, O2:H1, O2:H4, O4:H5, O6:H1, O7:H4, O7:H-, O22:H1, O25:H1, O25:H4, O75:H5 Y O75:H7 (Ananias *et al.,* 2008; Molina-López *et al.,* 2011; Arenas *et al.,* 2012).

El predominio de cierto grupo filogenético sobre otro en ITU varía dependiendo de la zona geográfica, ya que de pacientes en Irán se ha reportado un predominio del filogrupo B2 por sobre el D (55 y 22 cepas respectivamente) (Abdi *et al.,* 2014). Sin embargo, Darehabi *et al.* (2013), también en cepas de Irán, encontró un predominio del grupo A, seguido por el D. Por otro lado, Lee *et al.* en el 2010 analizó muestras de orina, sangre y heces, en los primeros dos los grupos predominantes fueron B2 y D, y en las muestras fecales predominó el grupo A, seguido por el B2.

Adbi *et al*. (2014) encontró una alta frecuencia de cepas de *E. coli* procedentes de ITU con los genes *iucD* y *fimH,* este último presente en todas las cepas analizadas, mientras que *iucD* predominó en cepas B2 (70% en B2 y 13% en D). De igual forma encontró una mayor varianza génica en cepas del grupo B2. Ruiz *et al.* (2002) encontró una relación entre pacientes con prostatitis y cepas con el alelo *papGIII* el cual es poco frecuente en cepas de pielonefritis, mientras que *iucD* era menos frecuente en cistitis que en prostatitis y pielonefritis. También encontró

que la presencia de *sat* y *fimH* no variaba entre infecciones y que las cepas de prostatitis presentaban más factores de virulencia (FV) que las de pielonefritis y cistitis. Cooke *et al.* (2010) encontró un mayor número de FV en pacientes de la comunidad que en los nosocomiales.

Velasco *et al.* (2001) encontró una capacidad de invasión disminuida (pielonefritis y prostatitis) en cepas de *E. coli* resistentes a quinolonas. De igual forma asoció cepas sensibles a fluoroquinolonas y a trimetoprim-sulfametoxazol al grupo filogenético B2 mientras que las cepas resistentes a fluoroquinolonas y trimetoprim-sulfametoxazol pertenecían al grupo A y D respectivamente, además de presentar un menor potencial virulento (Branger *et al.,* 2005). En 2006, Moreno *et al.* encontró que cepas sensibles a quinolonas y fluoroquinolas presentaban una mayor cantidad de genes de virulencia que aquellas que eran resistentes a los mismos. En otro análisis hecho por Cooke *et al.* (2010) se relacionó a FV y resistencia a antibióticos sin embargo reportó que no había una diferencia en la distribución de ambos.

Se ha encontrado una relación entre cepas de UPEC que expresan la fimbria P y los serogrupos O1, O2, O4, O6, O7 y O18. Algunos serotipos presentan una mayor virulencia que otros, como es el caso de la clona O25:H4-ST131 que produce enzimas CTX-M-15 y es conocida por su alta capacidad de virulencia, formación de biofilm y resistencia a diversos antibióticos. De igual forma existe una relación entre el serogrupo y la presencia de genes de virulencia, como es el caso de los serogrupos O2, O17 y O6, que almacenan a los genes *fimH*. El serogrupo O6 presenta una alta conservación del alelo *papGIII* (pili P), y una ausencia del gen *iucD* (aerobactina). Mientras que en el serogrupo O7 prevalecen los genes *papGII* e *iucD*. Recientemente se han reportado cepas multirresistentes del filogrupo A, además de miembros del grupo B2 altamente resistentes a ciprofloxacino, pero con la característica de contar con pocos factores de virulencia y de igual forma se han encontrado cepas con un alto número de factores de virulencia, pero sumamente sensibles a antibióticos. (Gordon *et al.,* 2008; Fathollahi *et al*., 2009; Kim *et al.,* 2010).

Antecedentes específicos

Dada la importancia de las ITU en nuestro país, se han llevado a cabo diversos estudios para analizar los aspectos particulares de estas. Distintas fuentes han demostrado la importante influencia que tiene *E. coli* como el principal agente etiológico de las ITU que afectan a la población de México (Vallejos *et al.,* 2010; Rendón *et al.,* 2012; Reyes *et al.,* 2012; García *et al.,* 2014). Durante el 2012 Rendón *et al.* Analizó la resistencia a antibióticos de 120 cepas de *E. coli* productoras de BLEE's y 291 cepas de *E. coli* no productoras de ESBL aisladas de pacientes ambulatorios, nosocomiales y procedentes de terapia intensiva del Hospital Ángeles del Pedregal de la Ciudad de México. En los pacientes nosocomiales y en los de terapia intensiva se observó en las cepas productoras de BLEE's existía una alta resistencia hacia: nitrofurantoina, trimetoprim/sulfametoxazol, levofloxacino, ciprofloxacino y norfloxacino. Mientras que en los pacientes ambulatorios las cepas resistentes a los antibióticos mencionados eran aquellas que no producían BLEE's. En este estudio se propone también a los aminoglucósidos y a las cefalosporinas de tercera generación como un tratamiento optativo en el caso de pacientes de terapia intensiva. En 2014, Castro *et al.* Analizó 115 cepas de enterobacterias aisladas de pacientes con ITU siendo *E. coli* el principal agente etiológico aislado en un 75% de los casos, seguido por *Proteus mirabilis* en un 8%, *Klebsiella spp* en un 7%, también se aislaron algunas especies de *Citrobacter sp* con un 4%, *Enterobacter sp, Morganella morganii*, *Providencia rustgianii y Shigella sp* con un porcentaje menor. El 21% de las cepas de *E. coli* obtenidas eran resistentes a cefalosporinas de tercera generación (ceftazidima y cefotaxima). Un trabajo similar a este es el que realizó López *et al.* (2014) quien además de determinar a los agentes etiológicos de 457 pacientes con ITU también consideró la edad y el sexo del paciente, encontrando que estos aislados provenían principalmente de niños (52.52%). Y una distribución por edad de: 91 pacientes menores de 6 meses (20%);137 tenían entre 7 y 12 meses de edad (30%);114 de uno a 5 años (25%) y 115 mayores de 5 años (25%), en cuanto a los agentes etiológicos se muestra nuevamente un

predominio de *E. coli* (68.3% de las cepas) frente a otros enteropatógenos como *E. faecalis* y *E. faecium* (9.7% entre ambos), *K. pneumoniae* (8.7%) y otros patógenos que suman el 13.8% restante. En las cepas de *E. coli* aisladas se presentaba resistencia principalmente hacia trimetoprim/sulfametoxazol (73%) seguida por la resistencia hacia ciprofloxacino (34%), siendo gentamicina, amikacina y nitrofurantoina (26.5%, 4.7% y 4.4% de cepas resistentes respectivamente) los fármacos hacia los que se presentó menor resistencia.

Reyes *et al.* (2012) analizó 78 urocultivos provenientes de pacientes menores de 16 años que se presentaron en la Clínica-Hospital Diana de especialidades de la Ciudad de Oaxaca cursando una infección urinaria durante el periodo del 1° de Enero al 30 de Junio del 2010, 72 de estos urocultivos correspondieron a *E. coli* y el análisis de susceptibilidad a antibióticos mostró sensibilidad a Amikacina (97.2% de las cepas), Ceftriaxona (80.5%), Nitrofurantoina (75%), Norfloxacina (63.8%), Cefazolina (55.5%), Cefalotina (50%), mientras que también presentaron resistencia principalmente hacia Trimetoprim-sulfametoxazol (100%), Cefuroxima (77.7%), Ampicilina (58.3%). Sin embargo, no hacen mención de la edad o el sexo de los pacientes de los que procedían las cepas. Recientemente García *et al.* (2014) realizó una revisión de 5,039 expedientes clínicos de pacientes del Hospital Infantil de Sonora en la que observó que las infecciones de tracto urinario fueron la principal causa de ingreso al hospital en el periodo 2003-2012 al grado de que tres de cada diez pacientes ingresaron por presentar una ITU o una complicación asociada a esta. En Puebla, Vallejos *et al.* (2010) Analizó 83 muestras de mujeres embarazadas atendidas en el Hospital Universitario de Puebla por ITU durante el periodo de Enero del 2007 a Diciembre del 2009 encontrando que *E. coli* fue el agente causal del 100% de estas infecciones y el tratamiento dado en el 68.67% de los casos fue con Ampicilina, sin embargo no se hace mención de la resistencia hacia este antibiótico.

A pesar del amplio conocimiento que se tiene sobre la epidemiología y los perfiles de susceptibilidad a antibióticos de las cepas de *E. coli* que afectan a los mexicanos, no se tiene mucha información sobre las características serológicas y

filogenéticas. Existen estudios como el de Reyna-Flores *et al.* (2013) que han demostrado la importancia de conocer las características serológicas, ya que después de analizar 4,735 cepas de *E. coli* adquiridas en la comunidad encontró que el 10.2% de estas almacenaban BLEE's siendo CTX-M-15 la principal β-lactamasa encontrada, a su vez el 25% de las cepas que presentaban dicha enzima pertenecían a la clona de *E. coli* O25b-ST131 la cual ha sido reportada previamente por su alta virulencia. De igual forma López *et al.* (2014) analizó 108 muestras de *E. coli* aisladas de mujeres con infección de tracto urinario encontrando un predominio de los filogrupos B2 (55.6%) y A (30.6%). Las cepas analizadas también mostraron resistencia hacia ampicilina/sulbactam (75.9%), ciprofloxacina (62.3%), levofloxacina (60.2%), trimetoprim/sulfametoxazol (56.1%) y ampicilina (55.2%). Sin embargo, no encontró alguna relación estadística entre la pertenencia a algún grupo filogenético y la resistencia a antibióticos. El estudio más completo hasta ahora ha sido el de Molina-López *et al.* (2011) que analizó 119 cepas aisladas de mujeres (68.9%) y hombres (31.1%) con infección urinaria, provenientes de tres hospitales de la ciudad de México. Realizó pruebas serológicas y encontró un predominio de los serogrupos O1, O2, O4, O6, O8, O25, y O75, los cuales han sido reportados previamente como característicos de cepas de UPEC. Entre los serotipos más frecuentes fueron O25:H4 con 17 cepas (21.2%), O8:NM y O6:H1 con 5 cepas cada uno (6.2% cada uno) durante su estudio también encontró a los serogrupos O11, O77, O86, O101, O102, y O166, los cuales no han sido relacionados con ninguna cepa de UPEC. Dentro de su trabajo también determinó los perfiles de susceptibilidad a antibióticos, encontrando cepas resistentes principalmente hacia ampicilina (83.7%), norfloxacina (60.6%), ofloxacina (60.6%), trimetoprim/ sulfametoxazol (56.4%) y ciprofloxacina (55.5%). Así como una baja resistencia hacia amikacina (1.7%) nitrofurantoina (5.1%), ceftazidima (8.5%) y ceftriaxona (10.2%).

Enfocándonos en los estudios previos realizados en el grupo de investigación en el que se desarrolló esta tesis podemos hablar de que en 2010 se obtuvieron 125 cepas de *E. coli* de pacientes con ITU, donadas por dos laboratorios particulares

de análisis clínicos y un hospital de salud pública del Estado de Puebla. Estas fueron aisladas principalmente de mujeres adultas (64%). La multirresistencia de UPEC se presentó en un 78%. 114 cepas de *E. coli* multiresistentes presentaron resistencia hacia AM (74%), CF (58-59.4%) y TSX (66%), y una tasa importante de resistencia a Cefepime (18%), CTX (20%) y LVX (49%). Se encontraron 42 serogrupos O diferentes, los más comunes fueron O25, O6, O8; O100 y O17. 26 de estas cepas presentan un serotipo relacionado a cepas de UPEC, 10 son O25:H4, 3 son O17:H18, 3 son O6:H1 y el resto en número de 2 pertenecen a otros serotipos reportados de UPEC. 10 cepas pertenecen al serotipo O25:H4: 80% son resistentes a AM, 90% resistentes a LVX y 80% posee el gen de la toxina Sat. En el 93.98% de las cepas de *E. coli se* encontró el gen *fimH* de la fimbria tipo I, seguido por los genes de las proteínas Vat y Sat (38% y 32% respectivamente) el gen *fliC* (30,38%), los alelos *pap*GII y *papGIII* del gen *papG* del Pili P (37.7% y 21.9 % respectivamente) y el gen que codifica para la hemolisina (*hlyA),* en 29.8%. Se encontró una relación entre el serogrupo O8 y el gen *papGIII,* y *hlyA*/*pap*GIII y el serogrupo O1 con el conjunto de genes *pap*GII *y hly*A. Además de una disminución significativa de la presencia del gen *hlyA* entre cepas multirresistentes y resistentes a cefalotina, trimetropin-sulfametosaxol, levofloxacina y ceftriaxona (Aroche, 2011, Molina, 2011; Martinez, 2012).

JUSTIFICACIÓN

E. coli es el principal agente etiológico causante de Infecciones de tracto urinario (ITU). La frecuencia con la que se producen estas infecciones ha ido en aumento, mientras que el tratamiento que se les da es cada vez más ineficaz. Esto pese a los diversos estudios y esfuerzos que se han hecho por disminuir el impacto que tienen las cepas de *E. coli* resistentes a antibióticos en la población mexicana. Al grado de que en nuestro país las infecciones de tracto urinario siguen ocupando la tercera causa de morbilidad en la comunidad. Diversos estudios en otros países remarcan la importancia del análisis de sus características epidemiológicas, perfiles de resistencia, genes de virulencia y clasificación filogenética ya que esto puede darnos un panorama más amplio de su patogenicidad y permitirnos plantear medidas que lleven a su control.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A pesar de ser un miembro de la microbiota intestinal, *E. coli* también es el principal causante de infecciones urinarias en la comunidad y en pacientes hospitalarios. En México las infecciones de vías urinarias ocupan el tercer lugar de morbilidad, siendo las mujeres de entre 24 y 44 años el grupo más afectado (DGE, 2013). La principal fuente de infección es la autocontaminación la cual se facilita por la existencia de cepas con propiedades particulares de resistencia a antibióticos y de factores de virulencia. Actualmente nos enfrentamos a la aparición de cepas resistentes a fluoroquinolonas y cefalosporinas de tercera generación, siendo las primeras parte de un tratamiento oral dado a estas ITU y las segundas, empleadas en el tratamiento intravenoso de infecciones severas en pacientes hospitalarios (WHO, 2014). La recopilación de información sobre las características fenotípicas y moleculares de las cepas de UPEC será útil para el tratamiento de las ITU por este importante agente etiológico, reduciendo así el gasto económico por parte del paciente y de los sistemas de salud. Además de permitirnos poner en cuestión si existen rasgos fenotípicos y moleculares característicos de las cepas de *E. coli* responsables de infección urinaria en una población mexicana.

HIPÓTESIS

Existe una relación entre la presencia de características fenotípicas, moleculares, microbiológicas y epidemiológicas en cepas de *E. coli* aisladas de infección de tracto urinario. *E. coli* aislada de infección de tracto urinario de población mexicana, posee características de patogenicidad diferentes a las reportadas en otros países.

Objetivos

Objetivo general

Estudiar epidemiológicamente, microbiológicamente, fenotípicamente y molecularmente cepas de *E. coli* aisladas de infección urinaria en población mexicana, así como determinar si existe una relación entre estas variables y las características del paciente del que fueron aisladas para proponer una mejora al tratamiento actualmente dado a las infecciones de tracto urinario.

Objetivos Particulares

Determinar las características patogénicas presentes en una colección de cepas de *E. coli* aisladas desde Diciembre 2005 a Octubre 2009 de pacientes del Hospital Infantil de la Ciudad de México que presentaban infección de tracto urinario a través de la determinación de perfiles de resistencia, la presencia de los principales genes de virulencia y su clasificación filogenética. Para posteriormente realizar un análisis en búsqueda de la relación existente entre las características de la cepa infectante y del paciente y con esto enriquecer el conocimiento que se tiene de las cepas de *E. coli* que afectan a la población mexicana.

Objetivos específicos

1.Analizar la información clínica de una colección de cepas de *E. coli* aisladas de ITU.
2.Determinar el grupo filogenético
3.Determinar los perfiles de susceptibilidad antibiótica.
4.Determinar la presencia de genes de virulencia.
5.Analizar y relacionar los datos de las cepas con los obtenidos para determinar la relevancia epidemiológica, la relación filogenética, perfiles de resistencia y genes de virulencia.

Bioética

Este protocolo se realizará en el Laboratorio de Biología Molecular de Enteropatógenos (LBME) del Centro de Investigación en Ciencias Microbiológicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (CICM-BUAP). Según el Integrated Taxonomic Information System, *Escherichia coli* es un microorganismo de riesgo tipo 2, acorde a esto nuestro laboratorio cuenta con el equipo de seguridad y nivel de contención requeridos para manejar a este microorganismo.

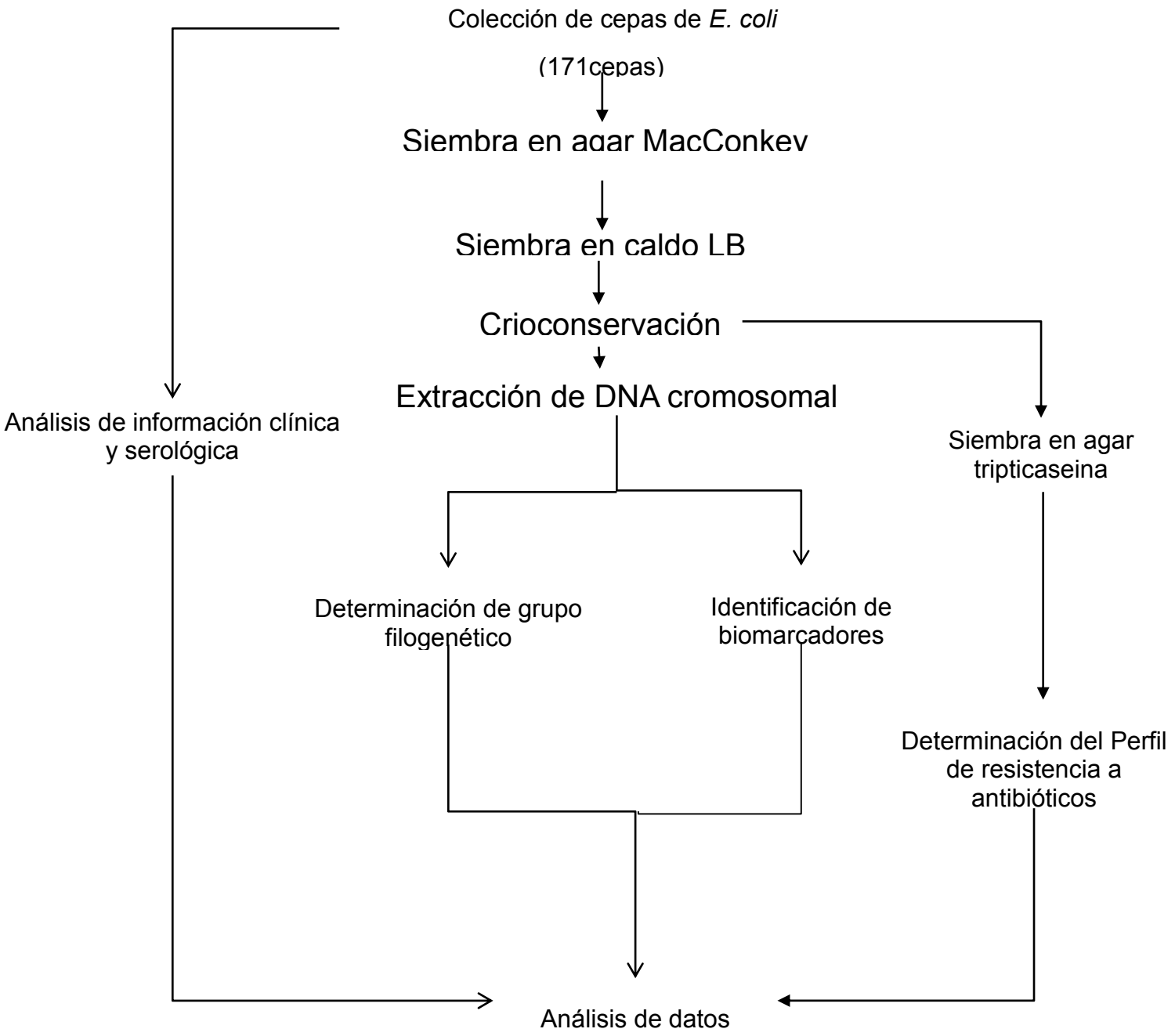
Para la elaboración del protocolo se consultó la Ley General de Salud en materia de Investigación para la Salud, se revisaron las Disposiciones generales del título I y se confirmó que se cuenta con los lineamientos establecidos en el título IV capítulo I artículo 75. Siguiendo en el mismo capítulo, en el artículo 76 se clasifica al LBME como Laboratorio Básico de microbiología, con lo que se cumple también el artículo 80 de éste capítulo. De igual forma se cuenta con el Manual de Procedimientos establecido en el artículo 77. El investigador principal determinó las condiciones de trabajo según los artículos 78, 79 y 80, además de cumplir con los requerimientos del artículo 83. El CICM-BUAP se encarga de que el LBME cumpla con el artículo 84. Los capítulos II y III no aplican para este protocolo ya que no se manejan ácidos nucleicos recombinantes ni materiales radioactivos. También se cumplen con las disposiciones de los títulos VIII y IX. Los títulos no mencionados hacen referencia a la investigación en seres humanos o con animales y no aplican para este protocolo.

La Ley General de Salud sustenta este protocolo en el título V artículo 96 fracciones II, III, V y en los artículos: 97, 98 y 99 referentes a la investigación para la salud. El título XII referente al Control Sanitario de Productos y Servicios y de su Importación y Exportación, el título XIII referente a Publicidad y el título XV referente a Sanidad Internacional no aplican para este protocolo.

De igual forma se revisaron: la ‘’NORMA Oficial Mexicana NOM-062-Zoo-1999, Especificaciones Técnicas Para La Producción, Cuidado Y Uso De Los Animales De Laboratorio’’ La cual al establecer que solo es aplicable a los bioterios y/o

establecimientos que manejen los animales establecidos en el apartado 1.1 no tiene función en este protocolo. La ‘’NORMA Oficial Mexicana NOM flora y fauna silvestres-- 059SEMARNAT2010, Protección ambiental Especies nativas de México de Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio de especies en riesgo’’ Ya que este protocolo no promueve la inclusión, exclusión o cambio de las especies o poblaciones silvestres en alguna de las categorías de riesgo dicha norma no es aplicable. También se revisó la ‘’NORMA Oficial Mexicana NOM-135-SEMARNAT-2004 Para la regulación de la captura para investigación, transporte, exhibición, manejo y manutención de mamíferos marinos en cautiverio’’ La cual tampoco aplica en este protocolo ya que en ningún momento se tiene contacto con mamíferos marinos. Igualmente se consultó la ‘’Declaración de Helsinki de la asociación Médica Mundial’’ esta declaración tampoco aplica en este protocolo ya que no se tiene contacto con personas durante la elaboración del mismo.

Esquema General de Trabajo



Material y Métodos

Material Biológico

Se trabajo con un cepario que incluye 171 cepas de *E. coli* aisladas de pacientes pedriátricos con ITU, donado por el Departamento de Salud Pública de la Facultad de Medicina de la UNAM. Estas se resembraron en Agar MacConkey, se incubaron a 37°C por 24 h y se corrobó su identidad por morfología colonial y por fermentación positiva de lactosa. Las colonias se crecieron en medio líquido Luria Bertani (LB) a 37°C, a 220 RPM de 18 a 24 hrs. Se inoculo un tubo nuevo con 5 mL de LB usando 20 µl del precultivo hasta obtener una DO_{260nm} 0.4 a 0.5. Del tubo de precultivo se obtuvieron paquetes celulares de 1.5 mL y del tubo a 0.5 se obtuvieron paquetes de 3 mL los cuales se usaron para la extracción de DNA plasmídico y cromosomal por lisis alcalina respectivamente. Las cepas se criopreservaron a -70 ºC en glicerol al 15%.

Extracción de DNA cromosomal

Se inoculan 20 µL de un precultivo de *E. coli* en caldo LB de toda la noche en un tubo con 3 mL LB y se incuba de 4 a 5 h a 37°C hasta obtener una densidad óptica de 0.4 nm. Se toman 0.5 mL y se colocan en un tubo Eppendorf para centrifugarlos a 12000 RPM por 5 min, se decanta y se obtiene el paquete celular y se agregan 570 µL de buffer SET (sacarosa, EDTA-TRIS), se agita en vortex por 30 seg y se agregan 30 µL de SDS al 20% invirtiendo el tubo por 20 seg. Nuevamente se mezcla en vortex por 20 seg, evitando hacer burbujas. Se incuba a 80°C por 5 min y se deja enfriar. Se agregan 2 µL de RNAsa y se incuba a 37°C por 45 min. Se deja enfriar y se adicionan 200 µL de NaCl 5M, se invierte el tubo por 20 seg y se deja reposar en hielo por 5 min. Se centrifuga a 12000 RPM y el sobrenadante se pasa a un tubo nuevo, al que se agregan 800 µL de isopropanol. Se mezcla por 1 min y se centrifuga a 12000 RPM por 20 min. Se decanta el sobrenadante y se hacen 3 lavados con 800 µl de etanol al 70%. Se seca la pastilla y se resuspende en 200 µL de Tris 10 mM a pH 8. Finalmente se incuba a 37°C por 15 min y se almacena a 4°C.

Determinación del grupo filogenético.

Se sintetizaron los oligonucleótidos para amplificar los genes *chuA* (Receptor externo de membrana de grupo hemo)*, yjaA* (proteína de respuesta al estrés) y el fragmento TSPE4.C2 (lipasa esterasa) que generan productos de 279, 211 y 152 pares de bases (pb) respectivamente. Primero se obtuvieron los tres amplificados individualmente, para esto se mezcló: 1x de Buffer, 1.5 mM de $MgCl_2$, 0.5 mM de cada par de oligonucleótido, 0.2 mM de Deoxinucleótidos trifosfato (DNTP's), 0.02 U/µL de Taq Polimerasa, 13.5 ng de DNA de la cepa de *E. coli* GAG1, la cual se uso como control positivo para la amplificación de los tres fragmentos de interés, y se agregó agua hasta alcanzar un volumen final de 20 µL. Para cada amplificado se usó la temperatura de alineamiento (Tm) recomendada (**Tabla 1**) por el fabricante (Unidad de síntesis y secuenciación de ADN del Instituto de Biotecnología de la UNAM), los productos se separaron en electroforesis en gel de agarosa al 1% junto con un marcador de peso molecular de 100 pb, se tiñeron con bromuro de etidio (BET) y la imagen del gel se capturó en un fotodocumentador de luz UV.

Tabla 1. Temperatura de alineamiento de los olignucleótidos para la clasificación filogenética.

Oligonucleótido	Tm(1) °C	Tm (2)°C
chuA.1	66.45	62.00
chuA.2	66.45	62.00
yjaA.1	66.45	62.00
yjaA.2	64,88	62.00
TspE4C2.1	64.75	60.00
TspE4C2.2	64.75	60.00

Una vez obtenidos los productos por PCR individual, se realizó un gradiente de temperaturas para determinar la Tm ideal (59°C) para obtener los tres productos en una sola reacción de PCR múltiple (PCRm). Para esto se hizo una mezcla con:

1x de Buffer, 1.5 mM de $MgCl_2$, 0.5 mM de cada oligonucleótido (*chuA*.1 con *chua*.2, *yjaA*.1 con *yjaA*.2 y *TspeE*.1 con *TspeE*.2), 0.2 mM de Deoxinucleótidos trifosfato (DNTP's), 0.02 U/µL de Taq Polimerasa, 13.5 ng de DNA de UPEC CFT073, *E. coli* K-12 cepa MC4100, EHEC O157:H7 cepa EDL933, y UPEC cepa GAG1. Para estandarizar este PCRm se usaron como control positivo las cepas de *E. coli* indicadas en la T**abla 2**, y como control negativo se usó la mezcla sin DNA. Los poductos se corrieron en gel de agarosa al 1.5% junto con un marcador de peso molecular 100pb. Para la interpretación de los resultados se usaron lo criterios mostrados en la **Tabla 3**.

Tabla 2. Controles usados para determinación de grupos filogenéticos.

Cepa	Amplifica	Grupo filogenético
EHEC O157:H7 cepa EDL 933	*chuA*	D
***E. coli* K-12 cepa MC 4100**	*yjaA*	A
EHEC O157:H7 cepa 86-24	*chuA,*	D
UPEC cepa GAG1*	*chuA, yjaA*, TSPE4.C2	B2

*Donada por la facultad de medicina de la UNAM. Información de Clermont *et al.* 2000.

Tabla 3. Tabla interpretativa para la determinación de grupo filogenético de acuerdo a la clasificación de Clermont *et al.,* 2000.

chuA (279pb)	*yjaA* (211 pb)	TspE4.C2 (152 pb)	Grupo filogenético
-	-	-	A
-	+	-	A
-	-	+	B1
-	+	+	B1
+	+	-	B2
+	+	+	B2
+	-	-	D
+	-	+	D

‘‘+’’: Amplificado, ‘‘-’’: No amplificado.

Tabla 4. Componentes de la mezcla de la Reacción en cadena de polimerasa múltiple (PCRm).

Reactivo	Concentración final
H_2O	
Buffer	1 X
$MgCl_2$	1.5 mM
ChuaA.1	0.5 mM
ChuaA.2	0.5 mM
YjaA.1	0.5 mM
YjaA.2	0.5 mM
TspeE.1	0.5 mM
TspeE.2	0.5 mM
DNTPs	0.2 mM
Taq Pol	1 U/µl
DNA	13.5 ng
Volumen final (H_2O)	20 µL

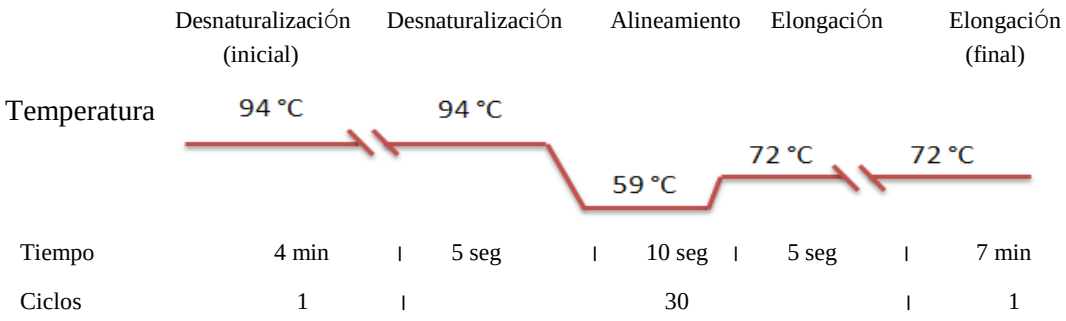


Figura 3. Temperaturas y tiempos del PCRm para la determinación de grupo filogenético (Clermont *et al.,* 2000)**.**

Determinación de perfiles de susceptibilidad a antibióticos.

Se determinó la susceptibilidad a 17 antibióticos de 6 familias distintas mediante el método de difusión en disco (Kirby-Bauer) siguiendo los lineamientos del *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2013). Las cepas de referencia fueron *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 cuyos halos de inhibición y perfiles de susceptibilidad están indicados en la tabla 4.. Los antibióticos probados fueron: Amikacina (30 µg/ml), Gentamicina (10 µg/ml), Netilmicina (30 µg/ml), Ampicilina (10 µg/ml), Cefalotina (30 µg/ml), Ceftazidima (30 µg/ml), Cefuroxima (30 µg/ml), Ceftriaxona (30 µg/ml), Cefotaxima (30 µg/ml), Ofloxacina (5 µg/ml), Levofloxacina (5 µg/ml), Norfloxacina (10 µg/ml), Ácido Nalidíxico (30 µg/ml), Ciprofloxacina (5 µg/ml) y Trimetropim/Sulfametoxazol (1.25/23.75 µg/ml), Nitrofurantoina (300 µg/ml), Cloranfenicol (30 µg/ml) (PMB SA de CV o BIO RAD). Para la prueba de susceptibilidad por difusión en disco se inocularon 5 µL de crioconservado de la cepa a analizar en un tubo con 5 mL de caldo tripticaseina se dejó crecer hasta alcanzar una concentración de 0.5 en la escala de McFarland (1.5×10^8 ufc/ml) y se sembró masivamente sobre una placa de Agar Mueller Hinton, antes de transcurridos 5 min se colocaron los sensidicos sobre la superficie del agar y se dejó incubar a 37 °C durante 16-18 hrs. Posteriormente se midió el diámetro de inhibición de cada sensidisco y los resultados se compararon con los criterios del CLSI, 2013 (**Tabla 5**).

Tabla 5. Valores de referencia para la determinaciòn de perfiles de susceptibilidad a 17 antibióticos.

	Valores de referencia* (Tamaño de halo en mm)			Valores de resistencia** (Tamaño de halo en mm)		
Antibiótico	Concentración (en µg)	*Escherichia coli* ATCC25922	*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853	Resistentes	Intermedias	Sensibles
Gentamicina	10	19-26	17-23	<12	13-14	>15
Netilmicina	30	22-30	17-23	<12	13-14	>15
Ofloxacina	5	29-33	17-21	<12	13-15	>16
Trimetropim/ Sulfasmetoxazol	1.25/ 23.75	23-29	-	<10	11-15*	>16
Amikacina	30	19-26	18-26	<14	15-16	>17
Ampicilina	10	16-22	-	<13	14-16	>17
Levofloxacina	5	29-37	19-26	<13	14-16	>17
Nitrofurantoina	300	20-25	-	<14	15-16	>17
Norfloxacina	10	28-35	22-29	<12	13-16	>17
Cefalotina	30	15-21	-	<14	15-17	>18
Ceftazidima	30	25-32	22-29	<17	18-20	>21
Cefuroxima (oral)	30	20-26	-	<14	15-22	>23
Cloranfenicol	30	21-27	-	<12	13-17	>18
Ácido Nalidixico	30	22-28	-	<13	14-18	>19
Ceftriaxona	30	29-35	17-23	<19	20-22	>23
Ciprofloxacina	5	30-40	25-33	<15	16-20	>21
Cefotaxima	30	29-35	18-22	<22	23-25	>26

*Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 2013, pág. 130. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, pág: 46-51.

Detección de Genes de virulencia

Se estandarizaron dos PCRm, el primero fue denominado PCRm1 en el que se amplifican los fragmentos: *fimH, fliC, satA e iucD* y en el segundo denominado como PCRm2, se obtienen los fragmentos: *iha*, *vatP, vatA, papGII y papGIII,* los tamaños en pb de cada uno de los amplificados se muestran en la **Tabla 6**. Para este experimento se usaró como control positivo el DNA genómico de las cepas que se muestran en la **Tabla 7**.

Tabla 6. Pesos en pares de bases de los amlpificados de gen por la PCRm.

PCRm1	
Gen	Tamaño (pares de bases)
iucD	512
satA	384
fliC	304
fimH	210

PCRm2	
Gen	Tamaño (pares de bases)
papGII	562
papGIII	421
vatA	330
vatP	226
Iha	150

Tabla 7. Controles para la determinación de genes de virulencia.

Cepas/PCR	Genes de virulencia				
PCRm1	*fimH*	*fliC*	*sat A*	*iucD*	
CFT073-1	+	+	+	+	
PCRm2	*iha*	*vatP*	*vatA*	*papGIII*	*papGII*
CR16-D	-	-	-	+	+
CFT073	+	+	+	-	-
O59I	-	-	-	+	+

*Información de Welch *et al* 2002 y Lloyd *et al* 2009.

Tabla 8. Componentes de la mezcla de PCR individual.

Reactivos			Concentración final
H_2O			Varía por muestra
Buffer + $MgSO_4$			1X
Oligos F y R según sea el gen a amplificar	*iuc D*	iucD -30 F	0.2 mM
		iucD 512 R	0.2 mM
	sat A	satA 987 F	0.2 mM
		satA 1321 R	0.2 mM
	fli C	fliC 242 F	0.08 mM
		fliC 445 R	0.08 mM
	fim H	Fim H F	0.4 mM
		FimH 186 R	0.4 mM
DNTPs			0.2 mM
Pfu			0.06 U/ µL
DNA			13.5ng
Volumen final			20 µL

Tabla 9. Componentes de la mezcla de PCR múltiple e individual.

Reactivos		Concentración final
H_2O		Varía por muestra
Buffer + $MgSO_4$		1X
iuc D	iucD -30 F	0.2 mM
	iucD 512 R	0.2 mM
sat A	satA 987 F	0.2 mM
	satA 1321 R	0.2 mM
fli C	fliC 242 F	0.08 mM
	fliC 445 R	0.08 mM
fim H	Fim H F	0.4 mM
	FimH 186 R	0.4 mM
DNTPs		0.2 mM
Pfu		0.06 U/ µL
DNA		13.5ng
Volumen final		20 µL

Una vez obtenidas las condiciones de mezcla y de temperaturas se aplicó el PCRm1 a las 171 cepas.

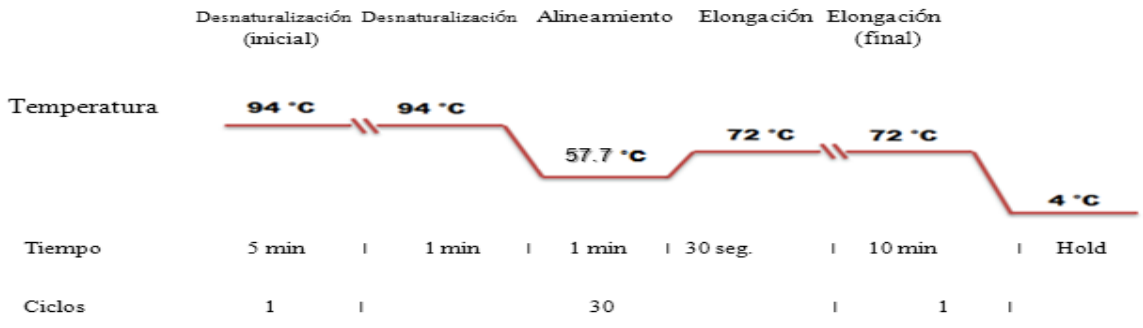


Figura 4. Temperaturas y tiempos definitivos del PCRm1.

El PCRm2 fue estandarizado con anterioridad por otros miembros del laboratorio por lo que este fue aplicado directamente a las 171 cepas con las condiciones de mezcla y de temperaturas mostradas en la **Tabla 10** y la **Figura 5**.

Tabla 10. Componentes de la mezcla de PCRm2.

Reactivo		Concentración final
H_2O		Varía por muestra
Buffer + MgSO		
papGII y papGIII	PapG1/PapG3 F	0.4 mM
	PapG2 / PapG3 R	0.4 mM
vatA	VatA-F	0.4 mM
	vatA-R	0.4 mM
vatP	vatP-F	0.4 mM
	vatP-R	0.4 mM
iha	iha-F	0.4 mM
	iha-R	0.4 mM
DNTPs		0.2 mM
Pfu Polimerasa		0.06 U/ul
DNA		13.5 ng
Volumen final		

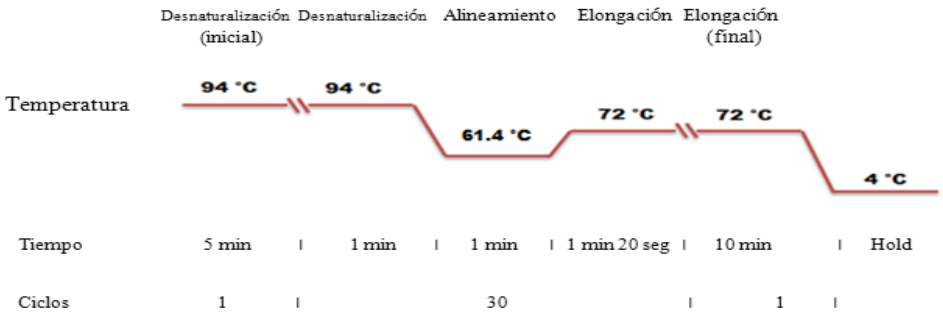


Figura 5. Temperaturas y tiempos para el PCR múltiple 2.

Resultados

Datos Epidemiológicos

De las 171 cepas de *E. coli* donadas por el Hospital infantil de México, solo contamos con la información clínica de 79 cepas (sexo del paciente del que se aisló, servicio médico en el que se encontraba el paciente cuando esta se aislóy fecha de aislamiento de la misma). Las cepas fueron obtenidas del período comprendido de diciembre del 2005 a octubre del 2010

. El mayor porcentaje de cepas se aislaron de febrero del 2006 hasta noviembre del mismo año, siendo Junio, Octubre del 2006 (11% en ambos meses) y Abril del mismo año (10%) los meses con el mayor porcentaje de aislamiento de cepas de *E. coli* (**Figura 6**).

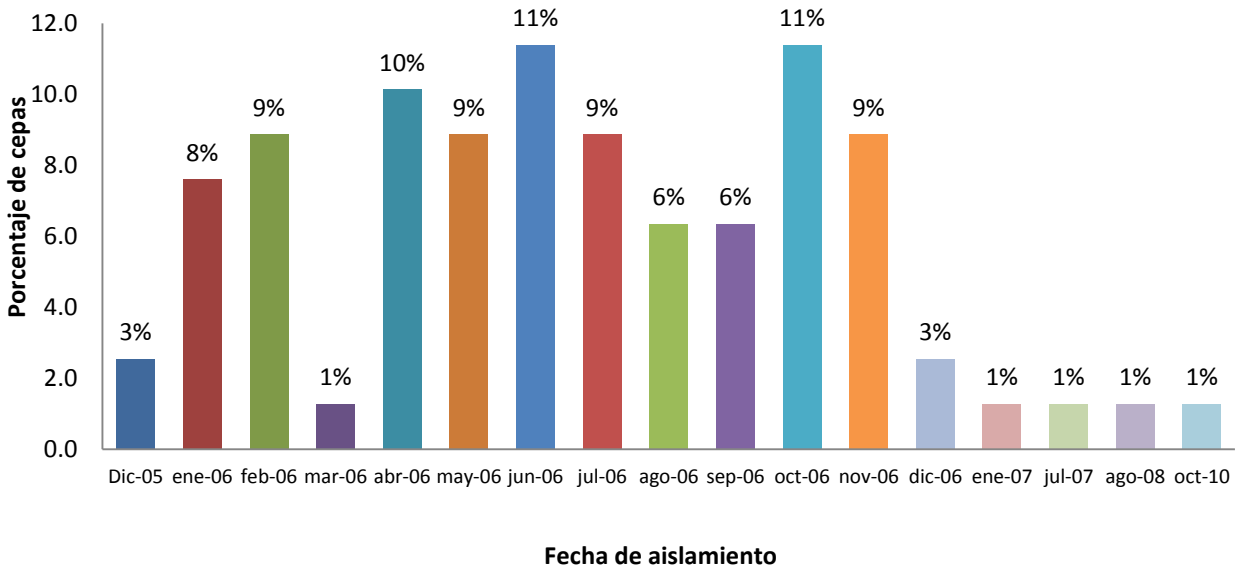


Figura 6. Cepas de *E. coli* aisladas de pacientes de ambos sexos con ITU que estuvieron internados desde Diciembre del 2005 hasta Octubre del 2010 al Hospital Infantil de México (n=79). Se indica en la gráfica el porcentaje de cepas aisladas por mes durante el periodo de obtención de cepas, los meses con mayor número de cepas aisladas fueron de febrero 06 a Noviembre 06, siendo los meses con mayor frecuencia Abril, Junio y Octubre.

Las 79 cepas proceden de 56 pacientes, 32 (57%) fueron pacientes femeninas y 24 (43%) fueron pacientes masculinos.

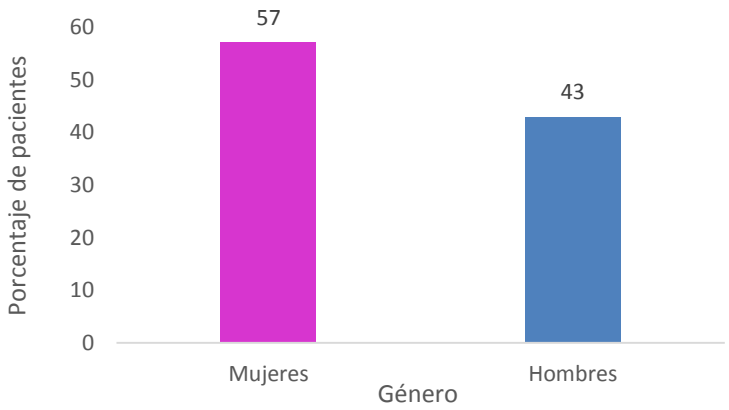


Figura 7. Porcentaje de pacientes según su género (n=56).

44 cepas (56%) provinieron de pacientes del sexo femenino y 35 cepas (44%) de pacientes del sexo masculino. Las ITU por *E. coli* predominan en el sexo femenino.

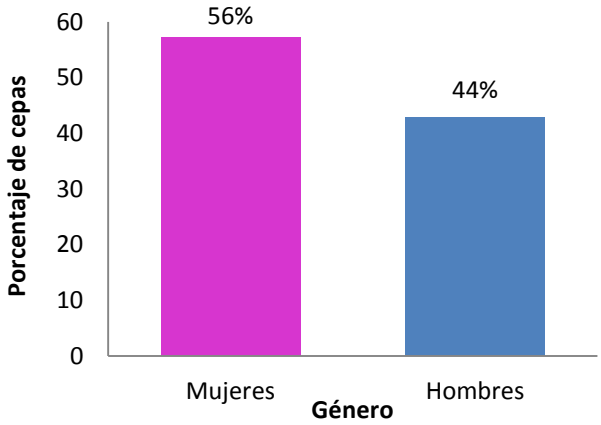


Figura 8. Porcentaje de cepas de *E. coli* (n=79) con respecto al género del paciente del cual fueron aisladas.

Encontramos pacientes con ITU's recurrentes desde el punto de vista clínico de los que se aislaron de cuatro (5%) a dos cepas (18%), predominando los pacientes de los que se aisló solo una cepase obtuvo un solo aislado (73%) (**Figura 9**).

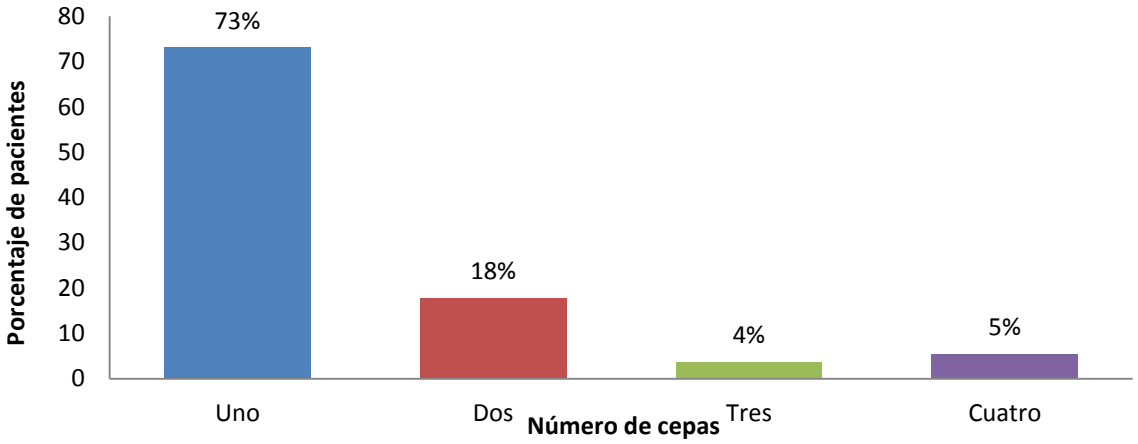


Figura 9. Porcentaje de pacientes con ITU de los que se aislaron de una cepa a cuatro cepas de *E. coli*. Se registraron pacientes con ITU recurrentes de los que se aislaron de 2 a 4 diferentes cepas en infecciones recurrentes.

Los servicios médicos (18 en total) donde se encontraron los pacientes con ITU a los que se les aisló *E. coli* fueron principalmente: nefrología, urgencias, urología y pediatría.

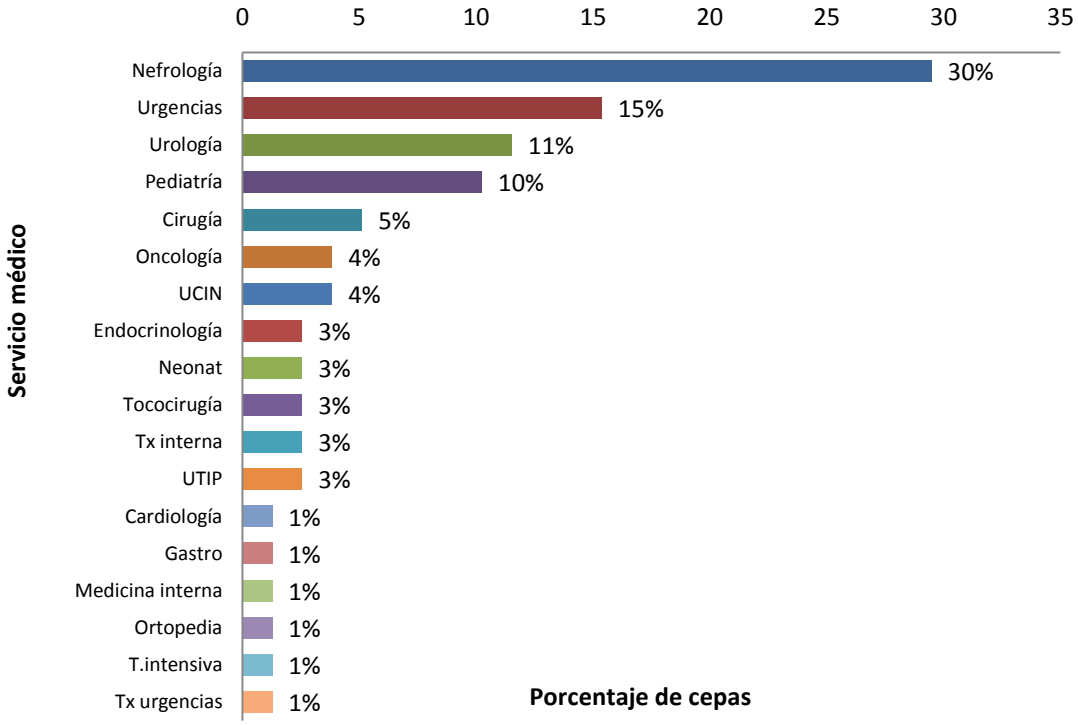


Figura 10. Porcentaje de cepas de *E. coli* (n=79) aisladas de ITU de pacientes hospitalizados por servicio médico. La gráfica nos muestra las áreas hospitalarias de las que se aislaron las cepas de *E. coli.*

Serotipificación de *E. coli*

Se realizó la serotipificación de 132 de las 171 cepas, encontramos 77 serotipos diferentes, de entre los que el que se encontró con mayor frecuencia fue O25:H4, seguido por O102:H6, O1:H6 y O6:H1, todos asociados a cepas del patotipo UPEC (Tabla 11).

Tabla 11. Serotipos de las 132 cepas de *E. coli* aisladas de pacientes hospitalizados cursando con ITU.

Serotipo	Número de cepas
O25:H4	10
O102:H6	7
O?:NM	7
O?:H?	6
O1:H6, O6:H1	5
O4:NM, **O86:H18**	4
O100:H?, O101:H?, O7:NM	3
O166:H15, O171:H19, O2:H6, O20:H9, O58:NM, OR:H?, OR:H6, OR:NM, O153:H2.	2
0176:H10, 49766:, O111ac:H38, O112ab:H21, O115:H17, O120:H51, O129:H?, O135:NM, O136:H?, O150:NM, O153:, O154:H25, O164:H4, O164:NM, O166.H?, O166:H4, O171:H?, O171:NM, O174:H21, O184:H10, O18ac:H?, O2:H?, O2:H1, O20:H?, O20:NM, O23:H18, O3:NM, O39:H4, O4:H6, O44:H?, O44:H18, O51:NM, O6:H11, O65:H32, O70:H-, O75:H5, O77:NM, O8:H12, O8:H23, O8:NM, O81:H6, O84:H34, O86:H?, O9:H-, O9:H12, O9:H7, O91:H28, OR:H18, OR:H30, OR:H4, O?:H11, O?:H4, O?:H5, O?:H7, Flex6:H2, O1:H7, O153:H6	1

En la tabla se muestran los serotipos a los que pertenecen las cepas analizadas (77 serotipos diferentes) y el número de cepas que los presentan. Se remarcan y subrayan los serotipos típicos de UPEC

Determinación de patotipos

La relación entre serotipo y patotipo se hizo mediante una revisión bibliográfica en la que varios artículos hacen mención del patotipo al que pertenecen los diversos serotipos de *E. coli,* sin embargo, durante la misma no encontramos información que asocie el patotipo del 44% (58 cepas) de los serotipos que encontramos.

Con base en esto se pudieron encontrar los patotipos de 74 de las 132 cepas serotipificadas, predominaron los patotipos de DEC por sobre los de UPEC (32% y 25% de las cepas respectivamente), de las DEC el patotipo principal fue STEC (22%).

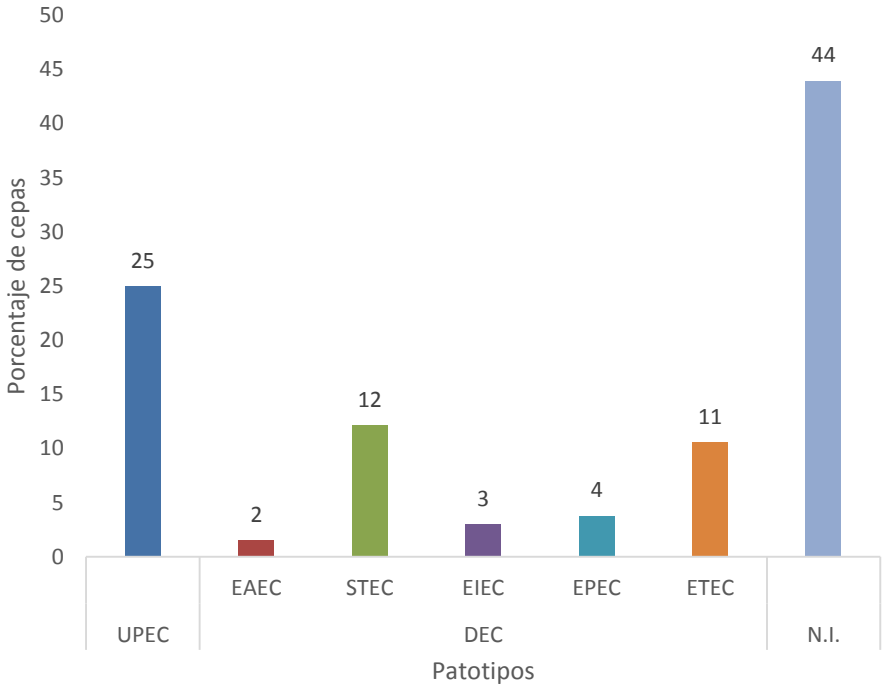


Figura 11. Patotipos a los que pertenecen las cepas de *E. coli* (n=132) aisladas de pacientes hospitalizados que cursaban una ITU. La gráfica nos muestra la determinación del patotipo con base en el serotipo que hicimos mediante la revisión bibliográfica. UPEC: *E. coli* uropatógena, EAEC *E. coli* Enteroagrgativa, STEC: *E. coli* codificante de Toxina Shiga, EIEC: *E. coli* Enteroinvasiva, EPEC: *E. coli* Enteropatógena, ETEC: *E. coli* Enterotoxigénica, N.I. No identificada.

Grupo filogenético

Se determinó del grupo filogenético de las cepas UPEC CFT073, *E. coli* K-12, EHEC O157:H7 cepa EDL 933, y UPEC cepa GAG1, para poder usarlas como controles. La interpretación de los resultados de PCRm se realizaron de acuerdo a la **Tabla 3** de material y métodos.

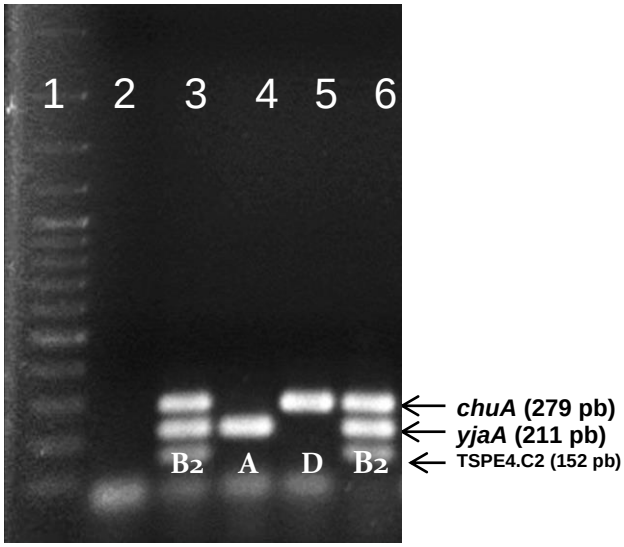


Figura 12. Gel representativo de PCR múltiple para la clasificación filogenética de las cepas control. Carril 1: 100 pb, Carril 2: control negativo, Carril 3: UPEC CFT073, Carril 4: *E. coli* K-12 cepa MC 4100, Carril 5: EHEC O157:H7 cepa EDL 933, Carril 6: UPEC cepa GAG1.

A través de la determinación de grupo filogenético por el método de Clermont encontramos que las 171 cepas de *E. coli* estudiadas pertenecen principalmente a los grupos filogeneticos B2 en un 36% y al grupo A en un 35% mientras que el 27% de las cepas pertenecen al grupo D y solo el 2% al B1 (**Figura 13 y 14**).

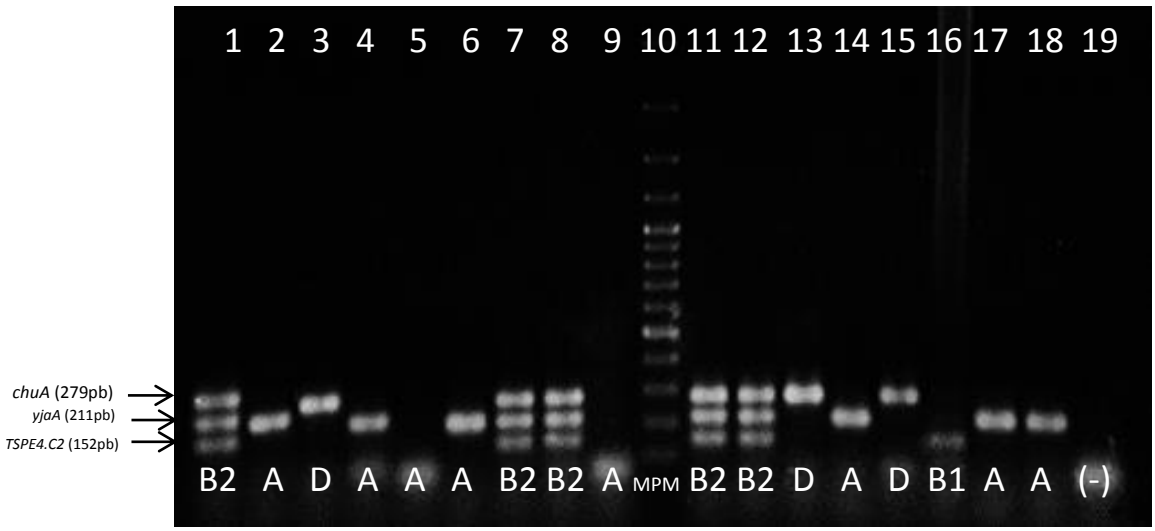


Figura 13. Determinación del grupo filogenético de cepas de *E. coli* (n=171) aisladas de ITU de pacientes hospitalizados por el método de Clermont. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% representativo de los amplificados de *chuA* (279 pb) *yjaA* (211pb) y/o TspE4.C2 (152 pb) obtenidos por PCRm. Carril 1 grupo B2 (control usando DNA cromosomal de cepa de UPEC GAG1), Carriles: 2, 4-6, 9, 14, 17 y 18 grupo A; Carril 16 grupo B1; Carriles 7, 8, 11 y 12 grupo B2; Carriles 3, 13 y 15 grupo D; Carril 10 marcador de peso molecular 100 pb.

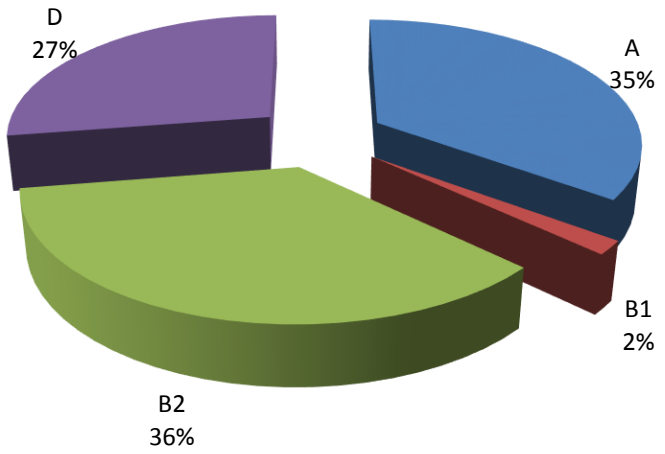


Figura 14. Distribución de grupos filogenéticos (A, B1, B2 y D) de las cepas de *E. coli* (n=171) clasificadas por el método de Clermont *et al.* 2000. La gráfica nos muestra el porcentaje de cepas que pertenecen a los distintos grupos filogenéticos.

Perfiles de susceptibilidad a antibióticos.

Se determinaron los perfiles de susceptibilidad por el método de Kirby-Bauer a 17 antibióticos (6 familias) siguiendo los criterios del CLSI (2013) de las 171 cepas de *E. coli* aisladas de ITU. Los antibióticos usados son tres aminoglucósidos (gentamicina, netilmicina y amikacina), seis β-lactámicos (ampicilina, cefalotina, cefuroxima, ceftazidima, cefotaxima y ciprofloxacina), cuatro quinolonas (ácido nalidíxico, levofloxacino, ciprofloxacino, ofloxacino y norfloxacino), trimetropin-sulfametosaxol, nitrofurantoína y cloranfenicol, la selección de antibióticos a probar fue con base en aquellos que se administran para tratar ITU en pacientes ambulatorios y hospitalizados. Se encontró un predominio de cepas resistentes a las cefalosporinas de 1a y 2a generación cefalotina (96%) y cefuroxima (98%) respectivamente, seguidos por las cepas resistentes a cloranfenicol (98%) y ampicilina (79%). Los antibióticos hacia los que hubo menor porcentaje de cepas resistentes fueron los aminoglucósidos amikacina (12%), Netilmicina (13%) y Gentamicina (21%). El resultado de los perfiles de susceptibilidad de estos y los demás antibióticos se muestran en la **Figura 15**.

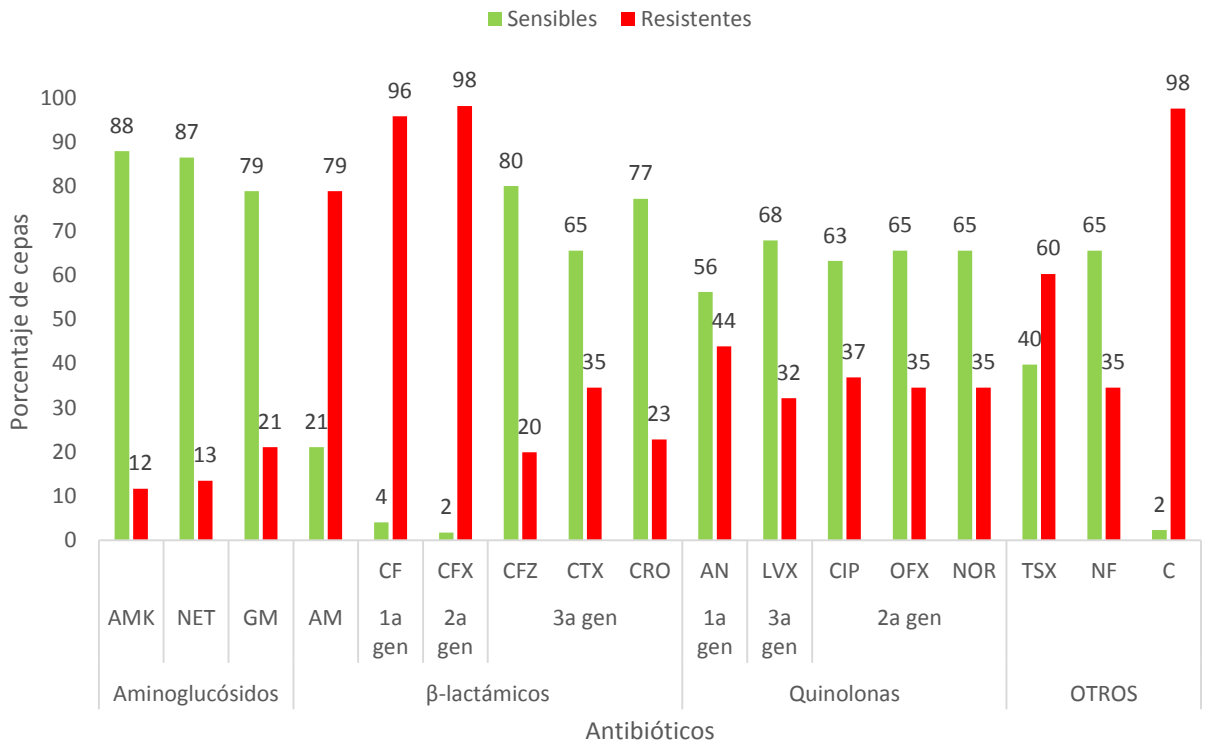


Figura 15. Perfil de susceptibilidad a antibióticos de cepas de *E. coli* (n=171) aisladas de ITU de pacientes hospitalizados. Se muestran los diferentes antibióticos usados en la determinación de perfiles de susceptibilidad, así como las familias a los que pertenecen y el porcentaje de cepas que fueron sensibles o resistentes a estos. AMK= Amikacina, NET= Netilmicina, GM= Gentamicina, AM= Ampicilina, CF= Cefalotina, CFX= Cefuroxima, CFZ= Ceftazidima, CTX= Cefotaxima, CRO= Ceftriaxona. AN= Ácido nalidíxico, LVX= Levofloxacina, CIP= Ciprofloxacina, OFX= Ofloxacina, NOR= Norfloxacina, TSX= Trimetropim/Sulfametoxazol y NF= Nitrofurantoina, C= Cloranfenicol.

Enfocándonos en los medicamentos considerados como de 1ª y 2ª elección por la secretaría de salud (SALUD, 2009) para el tratamiento de infecciones urinarias, Nitrofurantoina fue el antibiótico con menor incidencia de cepas resistentes (35%) mientras que el 60% de cepas son resistentes a Trimetoprim/Sulfametoxazol y el 37% a Cipofloxacino. En el caso de los antibióticos de 2ª elección, Ácido Nalidíxico presentó la mayor frecuencia de cepas resistentes (32%), seguido por Ofloxacino y Norfloxacino (35% de cepas resistentes en ambos casos) por lo que Levofloxacino fue el antibiótico de 2ª elección hacia el que hubo una menor frecuencia de cepas resistentes (32%) (**Figura 16**).

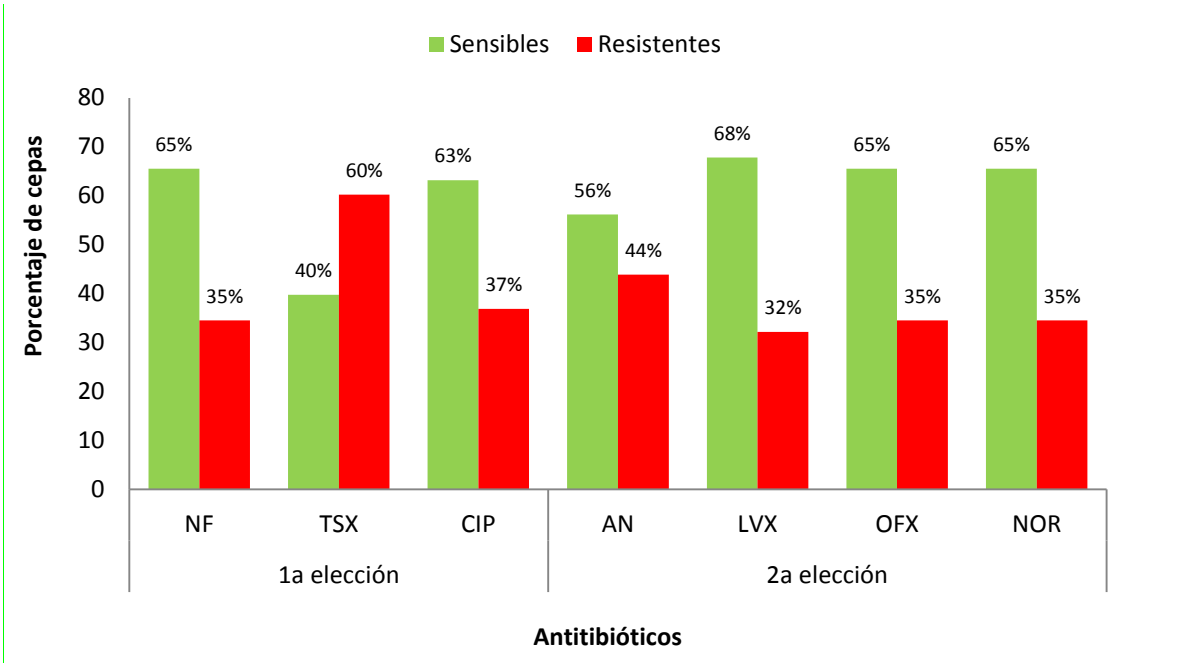


Figura 16. Perfiles de susceptibilidad a los antibióticos de 1ª y 2ª elección para el tratamiento de ITU de acuerdo a la Secretaría de Salud de cepas de *E. coli* (n=171) aisladas de ITU de pacientes hospitalizados. NF: Nitrofurantoina, TSX: Trimetoprim/Sulfametoxazol, CIP: Ciprofloxacino, AN: Ácido Nalidíxico, LVX: Levofloxacino, OFX: Ofloxacino, NOR: Norfloxacino.

Bajo el criterio de que una cepa Multidrogo resistente (MDR) es aquella que es resistente a dos o más familias diferentes de antibióticos, en nuestras cepas pudimos identificar que el 99% de estas son MDR, esta multirresistencia se distribuyó en: 8% de cepas resistentes a 6 familias de antibióticos, 16% a 5 familias, 27% a 4 familias, 32% a 3 familias, 16% a 2 familias dejando solo al 1% de las cepas resistentes a antibióticos pertenecientes a una familia **Figura 17**.

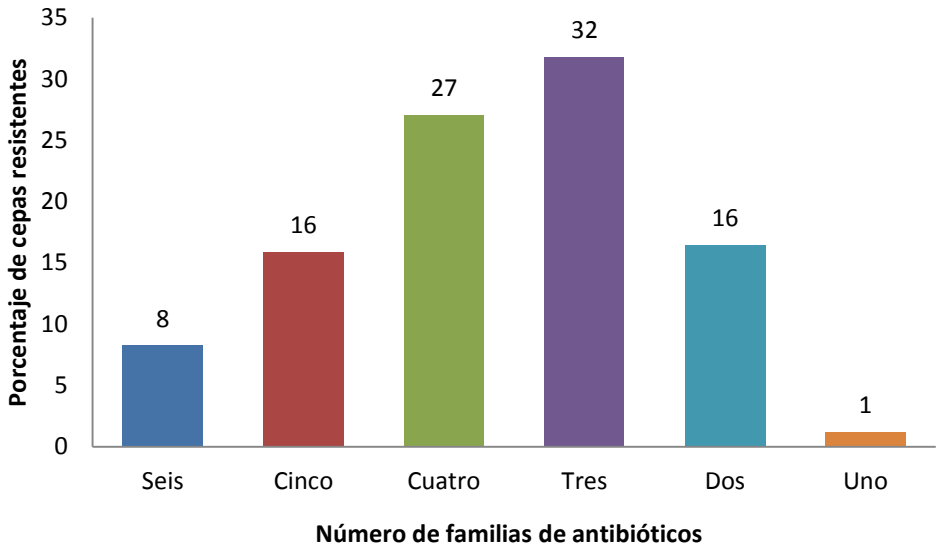


Figura 17. Porcentaje de cepas de *E. coli* (n=171) aisladas de ITU de pacientes hospitalizados resistentes por familia de antibióticos a las que son resistentes.

Con la información obtenida se determinaron los diferentes patrones de susceptibilidad a antibióticos o "Resistotipos" presentes en las 171 cepas de *E. coli* analizadas, encontrando un total de 89 resistotipos distintos destacando la resistencia hacia ampicilina, cefalotina, cefuroxima y cloranfenicol como ya se mencionó. Se encontraron 2 cepas resistentes a todos los antibióticos probados, pero no se encontró ninguna cepa que fuera sensible a los mismos. Los resistotipos más representativos se muestran en la **Tabla 12**. El esquema con todos los resistotipos se muestra en el **Anexo A**.

Tabla 12. Tabla representativa de los diversos resistotipos encontrados y el número de cepas de *E. coli* que los presentan.

Aminoglucósidos			β-lactámicos						Quinolonas					Otros			Número de cepas
				Cefalosporinas													
				1a gen	2a gen	3a gen			1a gen	2a gen							
AMK	NET	GM	AM	CF	CFX	CFZ	CTX	CRO	AN	LVX	CIP	OFX	NOR	TSX	NF	C	
S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	22
S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	9
S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	7
S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S	R	6
S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	5
S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	5
S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R	4
S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	S	R	R	4
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	2
R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	R	R	2
R	S	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	1
R	S	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	1
S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	1
S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	1
S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	1
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	1

Los resistotipos más frecuentes son aquellos que presentan resistencia hacia AM, CF, CFX y C, en algunos casos también hay resistencia hacia TSX y NF. R= Resistente, S= Sensible. AMK= Amikacina, NET= Netilmicina, GM= Gentamicina, AM= Ampicilina, CF= Cefalotina, CFX= Cefuroxima, CFZ= Ceftazidima, CTX= Cefotaxima, CRO= Ceftriaxona. AN= Ácido nalidíxico, LVX= Levofloxacina, CIP= Ciprofloxacina, OFX= Ofloxacino, NOR= Norfloxacino, TSX= Trimetropim/Sulfametoxazol y NF= Nitrofurantoina, C= Cloranfenicol

De los resistotipos encontrados pudimos observar que los de mayor frecuencia abarcaban a 4 familias de antibióticos (27 resistotipos diferentes) seguidos por las que abarcan a tres y cinco familias (21 y 20 resistotipos diferentes respectivamente) **Figura 18.**

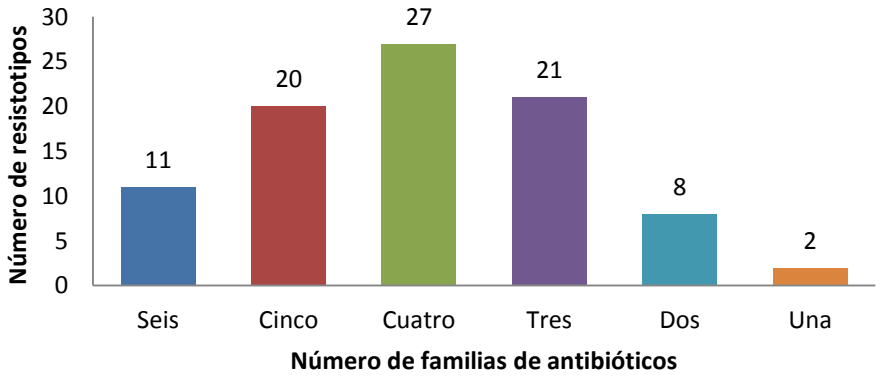


Figura 18. Frecuencia de los diferentes resistotipos en las cepas estudiadas

Detección de genes de virulencia

Para estandarizar el PCRm1 primero se obtuvo cada fragmento por separado a través de un PCR individual en el que se uso un gradiente de temperatura (T°C) para conocer la Tm ideal (**Figura 19**).

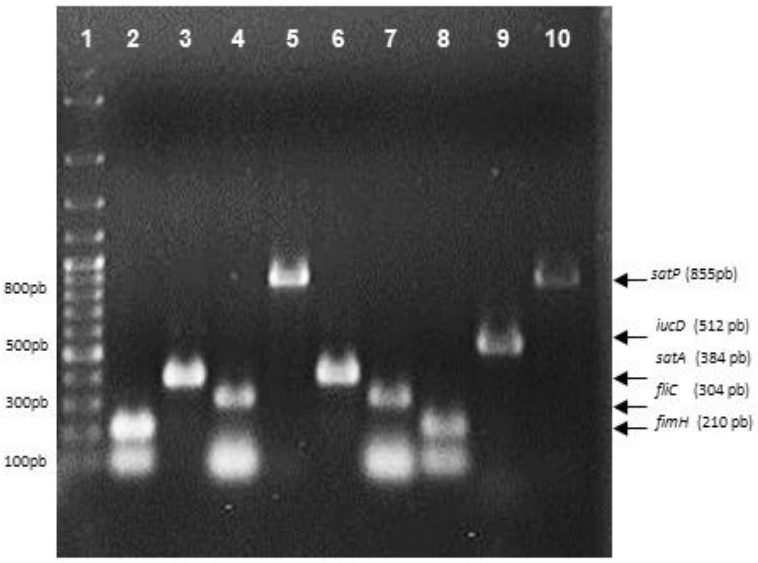


Figura 19. Gel de agarosa de PCR individual usando DNA cromosomal de la cepa control CFT073 para la detección de los genes *fimH, fliC, satP, iucD* y *satA*. Fotografía de electroforesis en gel de agarosa al 1% de productos amplificados por PCR individual. Las Tm usadas para obtener cada producto fueron Carril 2: 49.2°C, Carril 3: 53.1°C, Carril 4 y 5: 54.7°C, Carril 6: 57°C, Carril 7 y 8: 58.4°C, Carril 9 y 10: 60.1°C**.** carril 1. Marcador de PM, 100pb (Fermentans). El nombre y tamaño del producto se indica a la derecha del gel.

Ya obtenidos los amplificados por separado, se hizo un gradiente de temperatura para obtener las condiciones a usar en el PCR múltiple, dado que el fragmento *satP* no se pudo obtener bajo ninguna condición, se le excluyó del PCRm1 (**Figura 20).**

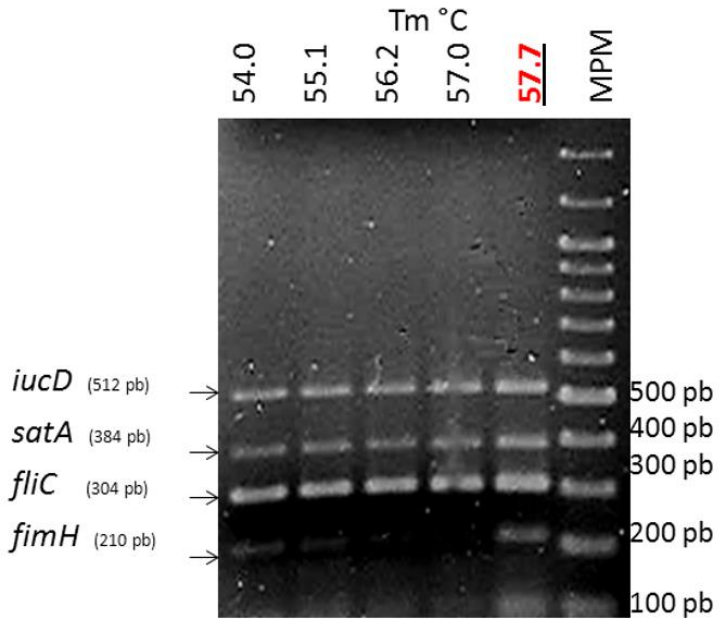


Figura 20. Gel de agarosa (1%) del PCRm usando DNA cromosomal de cepas control (CFT073) para la detección de los genes *fimH, fliC, satA, satP e iucD*. Gel de agarosa al 1% de los productos obtenidos por PCRm1 usando gradiente de temperatura. La Tm a la que se obtuvieron los 4 amplificados se muestra en la parte superior de cada carril, se subraya la temperatura seleccionada para ensayos posteriores con las muestras problema. MPM. Marcador de peso molecular, 100 pb (Fermentans).

La búsqueda de genes de virulencia se hizo mediante dos PCRm, en el primero se amplifican los genes de la adhesina fimbrial (*fimH*) de 210 pb, la región autotransportadora de la toxina autotransportadora secretada (*satA*) de 384 pb, la flagelina (*fliC*) de 304 pb y la aerobactina (*iucD*) de 512 pb, mientras que en el segundo (PCRm2) fue previamente estandarizado por los compañeros del laboratorio y amplifica los genes de la adhesina/receptor de hierro (*iha*) de 150 pb, la toxina autotransportadora vacuolizante en sus regiones peptidasa (*vatP*) y autotransportadora (*vatA*) de 226 y 330 pb respectivamente, así como los alelos *papGII* y *papGIII* del pili P o Pap de 421 y 641 pb respectivamente (**Figura 21**).

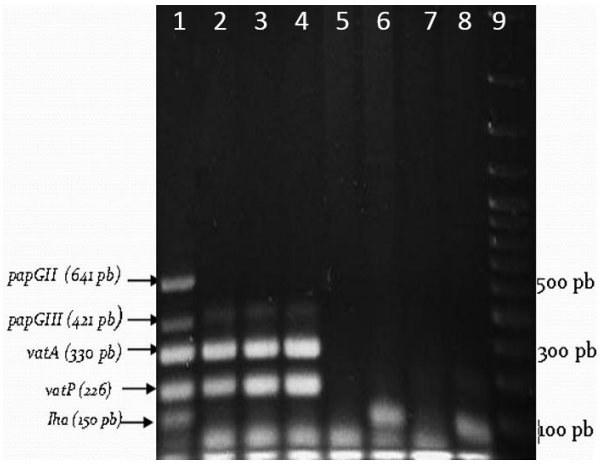


Figura 21. Resultados de PCRm2 usando DNA genómico de cepas problema de *E. coli* aisladas de ITU para la detección de los genes *ihaA, vatA, vatP, papGIII y papGII*. Electroforesis en gel de agarosa al 1% de los productos obtenidos por PCRm2 con TM de 61.4°C. En la parte izquierda se indican con flechas el nombre y entre paréntesis el tamaño en pb de cada producto obtenido. En carril 9 MPM. Marcador de PM 100pb (Fermentans); carril 1. Cepa CFT073+O59I; carril2 a 4. Cepa CFT073, Carril 5 a 7: Cepa GAG1, Carril 8: control negativo.

En la **Figura 22** se puede observar un gel de agarosa representativo del PCRm1 y en la **Figura 23** un gel representativo de PCRm2.

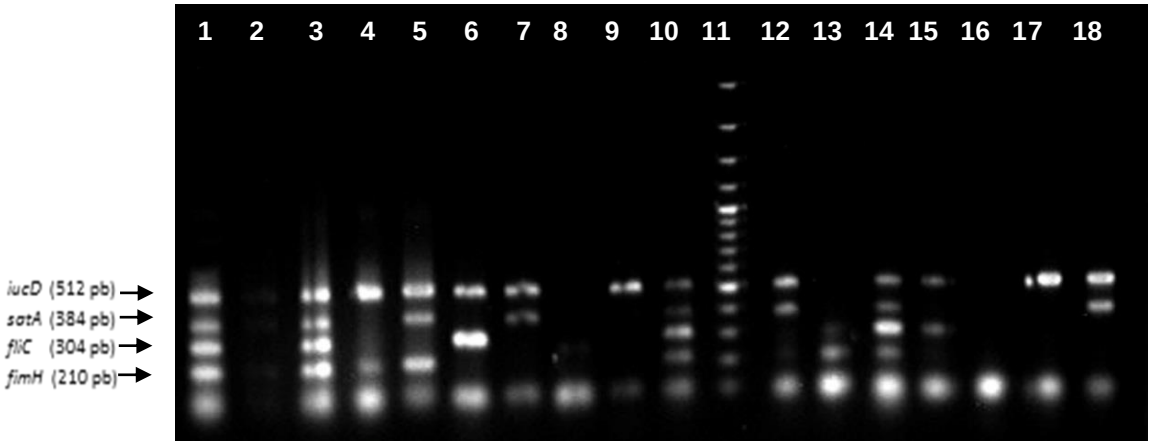


Figura 22. Detección de genes de virulencia característicos de UPEC por PCRm1 de cepas de *E. coli* (n=171) aisladas de ITU de pacientes hospitalizados. Electroforesis en gel representativo de los productos obtenidos del PCR múltiple 1 (PCRm1). Carril 1: cepa CFT073, Carril 2: cepa GAG1, Carril 3: cepa GAG1 concentrada, Carril 4: cepa 101, Carril 5: cepa 118, Carril 6: cepa 13, Carril 7: cepa 56, Carril 8: cepa 81, Carril 9: cepa 104, Carril 10: cepa 129, Carril 11: MPM 100 pb, Carril 12: cepa 120, Carril 13: cepa 119, Carril 14: cepa 66, Carril 15: cepa 164, Carril 16: cepa 76, Carril 17: cepa 43, Carril 18: cepa 109. De lado izquiero con flechas el nombre y tamaño en pb de los genes amplificados.

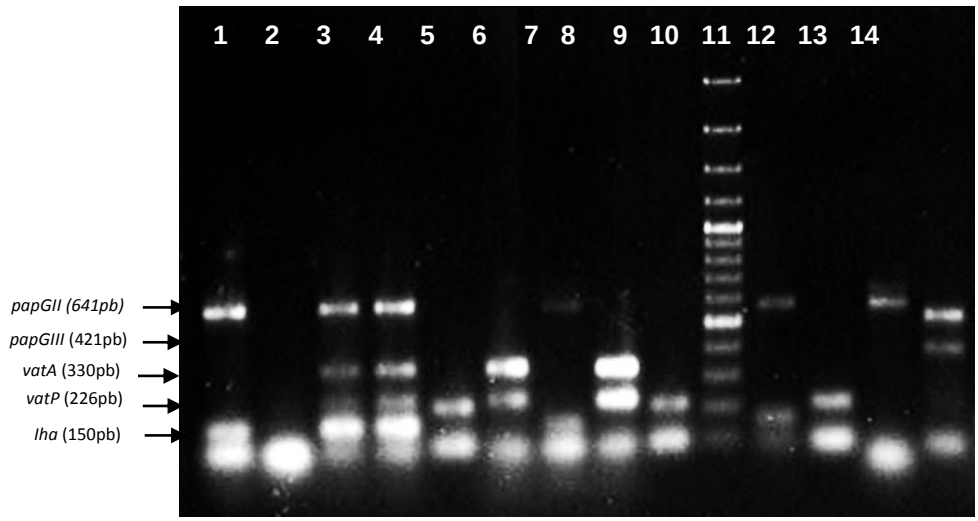


Figura 23. Detección de genes de virulencia característicos de UPEC por PCRm2. Gel representativo de PCR múltiple 2 para la detección de genes de virulencia. Carril 1: cepa CR16, Carril 2: cepa 166**,** Carril 3: cepa O591+CFT073, Carril 4: cepa 129, Carril 5: cepa 134, Carril 6: cepa 22, Carril 7: cepa 21, Carril 8: cepa 87**,** Carril 9: cepa 76, Carril 10: marcador de peso molecular 100 pb, Carril CR16**,** Carril 12: cepa 154, Carril 13: cepa 78, Carril 14: cepa O59I. De lado izquierdo con flechas el nombre y tamaño en pb de los genes amplificados.

El gen de virulencia predominante en las 171 cepas de *E. coli* aisladas de ITU es el de la adhesina fimbrial tipo 1 (*fimH)* con un 84%*,* seguido por los genes de la adhesina/receptor de hierro (*iha*) en el 60%, la aerobactina (*iucD*) en un 53% y el de la toxina autotransportadora vacuolizante en su dominio peptidasa (*vatP)* 37%, el gen *vat* en su dominio autotransportador (*vatA*) de igual forma que el del flagelo (*fliC*) están en el 17% de las cepas. Solo el 12% de las cepas presentaban tanto dominio peptidasa (*vatP*) como el autotransportador (*vatA*) de VAT. El gen de la toxina autotransportadora secretada en su región autotransportadora (*satA*) está en el 22% de las cepas. Los alelos del pili P, *papGII* y *papGIII* están presentes en el 10% y 7% de las cepas respectivamente, el 5% de las cepas presentaron ambos alelos. El 5% (9 cepas) de las cepas no amplificaron ninguno de los genes de virulencia buscados. Esta información se muestra en la **Figura 24**.

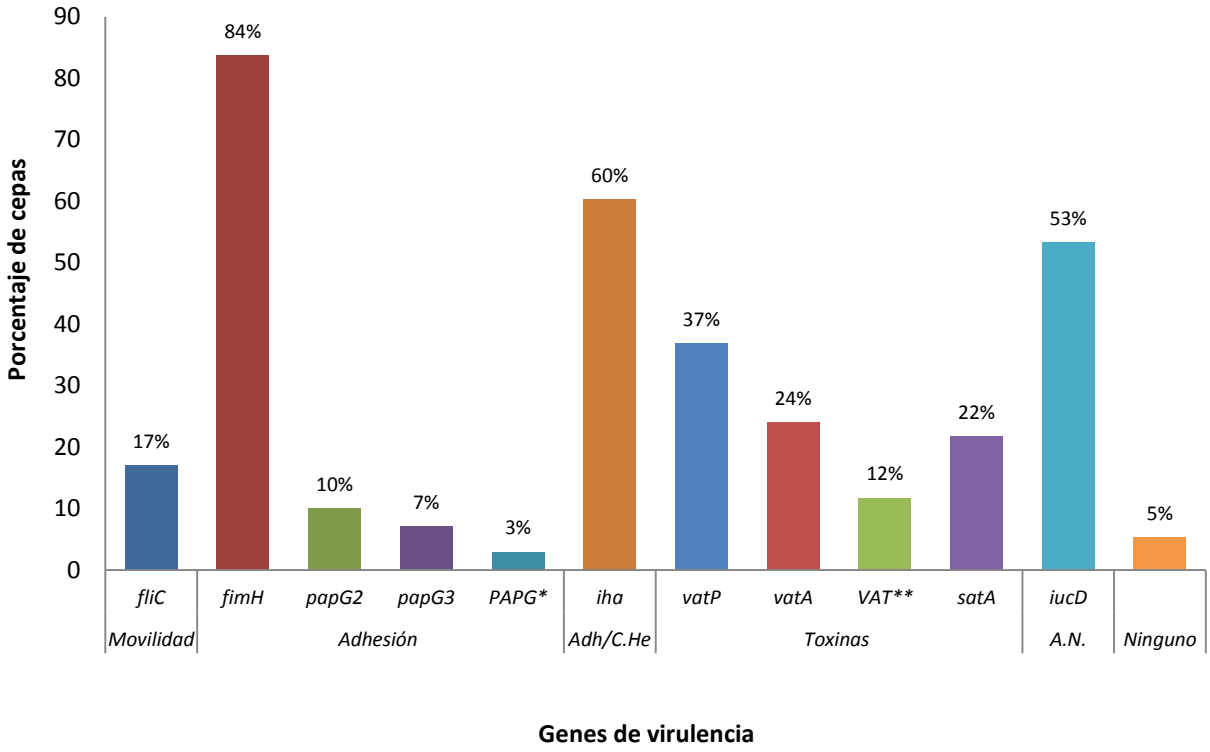


Figura 24. Determinación de genes de virulencia de cepas de *E. coli* (n=171) aisladas de ITU de pacientes hospitalizados. Predominó la presencia de genes que codifican para la adhesina fimbrial y la aerobactina. PAPG* Porcentaje de cepas que presentan *papG II y III*. VAT ** Porcentaje de cepas que presentan *vatA* y *vatP,* Adh/C.He: Adherencia y captación de hierro, A.N.: Adquisición de nutrientes.

Los genes de virulencia se encontraron en 50 patrones diferentes de presencia simultánea, los más relevantes se describen en la **Tabla 13** y todos los patrones se muestran en el **Anexo B**.

Tabla13. Tabla representativa de los distintos patrones de presencia simultánea de factores de virulencia encontrados por PCRm a partir de DNA cromosomal de cepas de *E. coli* (n=171) aisladas de ITU de pacientes hospitalizados.

Número de Genes	Genes presentes	Número de cepas
1	*fimH+*	23
2	*fimH+iucD+*	16
3	*fimH+iha+vatP+*	11
3	*fimH+iucD+iha+*	9
0	Ninguno	9
5	*fimH+satA+iucD+iha+vatP+*	8
4	*fimH+satA+iucD+iha+*	8
2	*fimH+iha+*	8
8	*fimH+fliC+satA+iucD+iha+vatP+vatA+papG2+*	3
2	*iha+vatP+*	2
1	*iha+*	2
9	*fimH+fliC+satA+iucD+iha+vatP+vatA+papG3+papG2+*	1
7	*fimH+fliC+iucD+iha+vatP+papG2+*	1
3	*iha+vatP+vatA+*	1
2	*fimH+vatA+*	1
2	*fliC+iha+*	1
2	*fliC+papG2+*	1
2	*papG3+papG2+*	1

Se observa un predominio de cepas que solo contienen el gen *fimH* (23 cepas), así como la presencia simultánea de *fimH+iucD* en 16 cepas. Encontramos también 1 cepa (cepa 124) que presentaba los 9 genes de virulencia y 3 que solo eran deficientes del alelo *papGIII* (cepas 62, 65, 129), así como 9 cepas que no presentaron ninguno de los genes de virulencia que buscamos (Cepas 39, 41, 81, 110, 123, 135, 139, 158 y 160).

Características de cepas aisladas de pacientes con infecciones recurrentes

En el análisis de las cepas que fueron aisladas de pacientes con ITU recurrente encontramos que varias de estas cepas fueron aisladas de los servicios médicos de urgencias y pedriatría, que pertenecen al filogrupo A y que presentan serotipos asociados a ETEC.

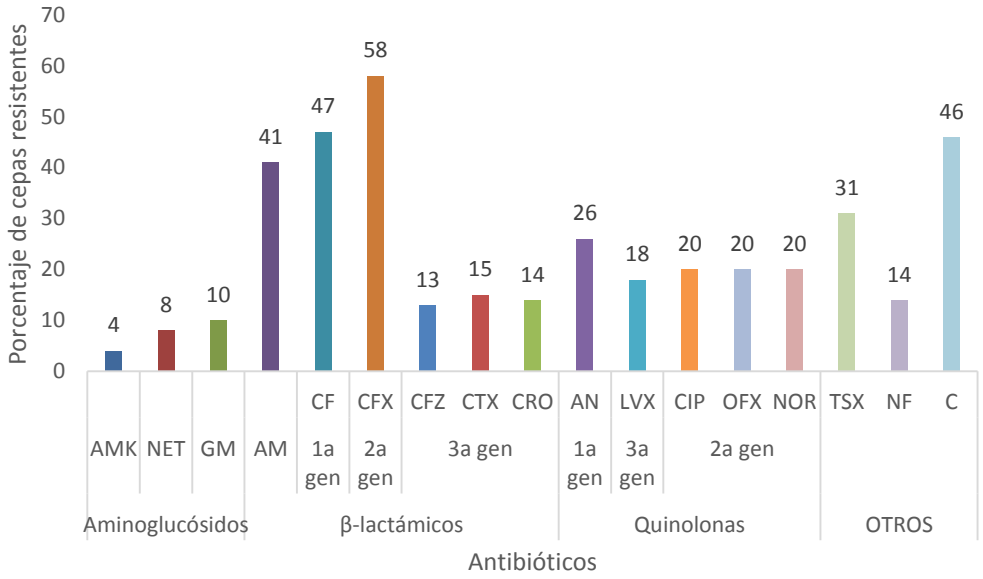
Tabla 14. Tabla representativa de las cepas aisladas de pacientes con infección recurrente, se muestran las características analizadas durante nuestro estudio

Cepa	Servicio médico de la que se aisló	Fecha de aislamiento	Serotipo	Patotipo	Grupo filogenético	MDR	Número de antibióticos a los que la cepa		Genes de virulencia									Número de genes de virulencia
							Sensible	Resis	*fimH*	*fliC*	*satA*	*iucD*	*iha*	*vatP*	*vatA*	*papG3*	*papG2*	
2	Urgencias	12/07/2006	O?:NM	N.I.	A	si	5	12	+	-	-	+	+	+	-	-	-	4
9	Urgencias	12/07/2006	O4:NM	ETEC	B2	si	12	5	+	+	-	+	+	-	-	+	+	6
27	Urgencias	12/07/2006	O4:NM	ETEC	B2	si	12	5	-	+	-	+	+	-	-	+	+	5
42	Pediatria	22/08/2006	O20:H9	ETEC	A	si	12	5	-	+	-	-	+	-	-	-	-	2
94	Pediatria	22/08/2006	O1:H6	UPEC	A	si	3	14	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
83			O?:H?	N.I.	A	si	1	16	+	-	-	+	+	+	-	-	-	4
93			O?:NM	N.I.	A	si	4	13	+	-	-	+	-	-	-	-	-	2

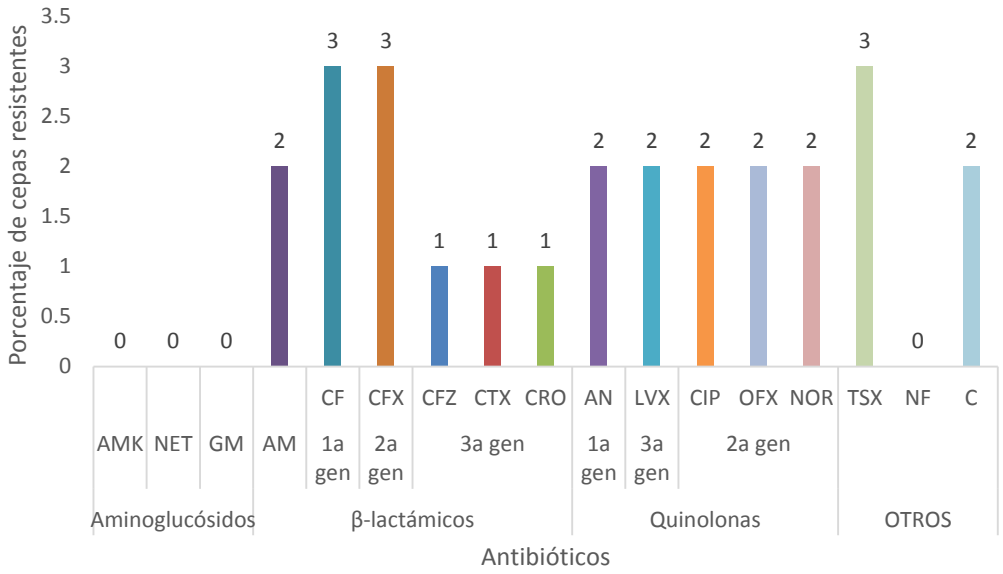
Análisis de la resistencia a antibióticos por grupo filogenético

Con base en la clasificación filogenética y los perfiles de susceptibilida a antibióticos de las 171 cepas, estudiamos la relación entre resistencia a antibióticos según el grupo filogenético de cada cepa, encontrando que la resistencia hacia ampicilina, cefalotina, cefuroxima y cloranfenicol fue similar entre los cuatro grupos filogenéticos. Mientras que en general hubo una menor frecuencia de cepas resistentes a aminoglucósidos, cefalosporinas de 3ª generación, quinolonas y nitrofurantoina del filogrupo B2. (**Figura 25**).

a)


Porcentaje de cepas resistentes
70
60
50
40
30
20
10
0
4
8
10
41
47
58
13
15
14
26
18
20
20
20
31
14
46
AMK
NET
GM
AM
CF
CFX
CFZ
CTX
CRO
AN
LVX
CIP
OFX
NOR
TSX
NF
C
1a gen
2a gen
3a gen
1a gen
3a gen
2a gen
Aminoglucósidos
β-lactámicos
Quinolonas
OTROS
Antibióticos

b)


Porcentaje de cepas resistentes
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
0
0
0
2
3
3
1
1
1
2
2
2
2
2
3
0
2
AMK
NET
GM
AM
CF
CFX
CFZ
CTX
CRO
AN
LVX
CIP
OFX
NOR
TSX
NF
C
1a gen
2a gen
3a gen
1a gen
3a gen
2a gen
Aminoglucósidos
β-lactámicos
Quinolonas
OTROS
Antibióticos

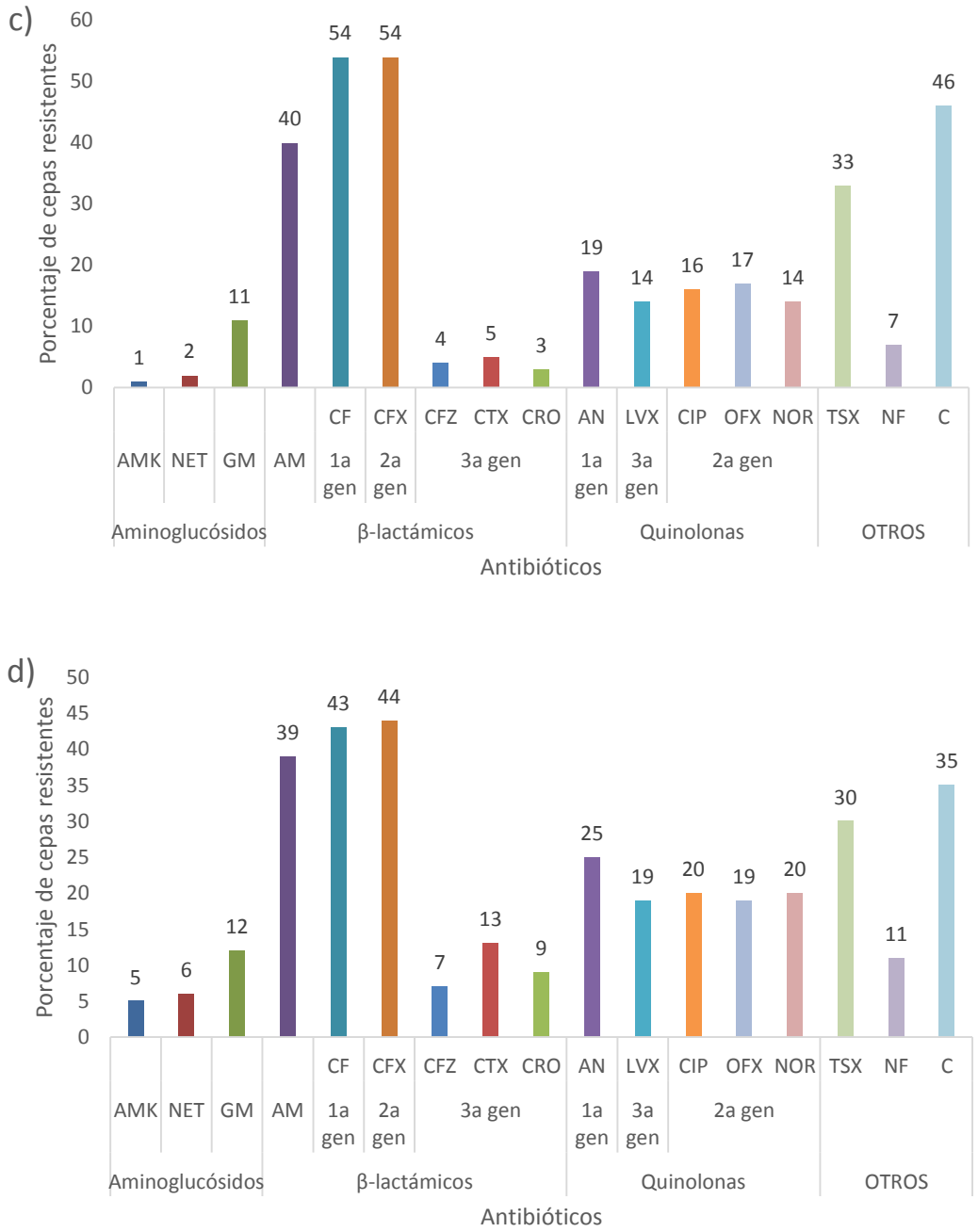


Figura 25. Resistencia a los antibióticos analizados de cada grupo filogenético de cepas de *E. coli* (n=171) aisladas de ITU de pacientes hospitalizados. a) Cepas del filogrupo A (n=60); b) cepas del filogrupo B1 (n=3); c) cepas del filogrupo B2 (n=61); d) cepas del filogrupo D (n=47).
AMK= Amikacina, NET= Netilmicina, GM= Gentamicina, AM= Ampicilina, CF= Cefalotina, CFX= Cefuroxima, CFZ= Ceftazidima, CTX= Cefotaxima, CRO= Ceftriaxona. AN= Ácido nalidíxico, LVX= Levofloxacina, CIP= Ciprofloxacina, OFX= Ofloxacina, NOR= Norfloxacina, TSX= Trimetropim/Sulfametoxazol y NF= Nitrofurantoina, C= Cloranfenicol.

Enfocándonos en los perfiles de resistencia hacia los antibióticos de 1ª y 2ª elección (SALUD, 2009) podemos observar, eliminando el grupo B1 representado por 3 cepas, en la grafica 15 que la resistencia hacia estos antibióticos se presentó principalmente en cepas del grupo D, seguidas por las del grupo A mientras que el grupo B2 fue en el que hubo una menor frecuencia de cepas resistentes a estos antibióticos **Figura 26.**

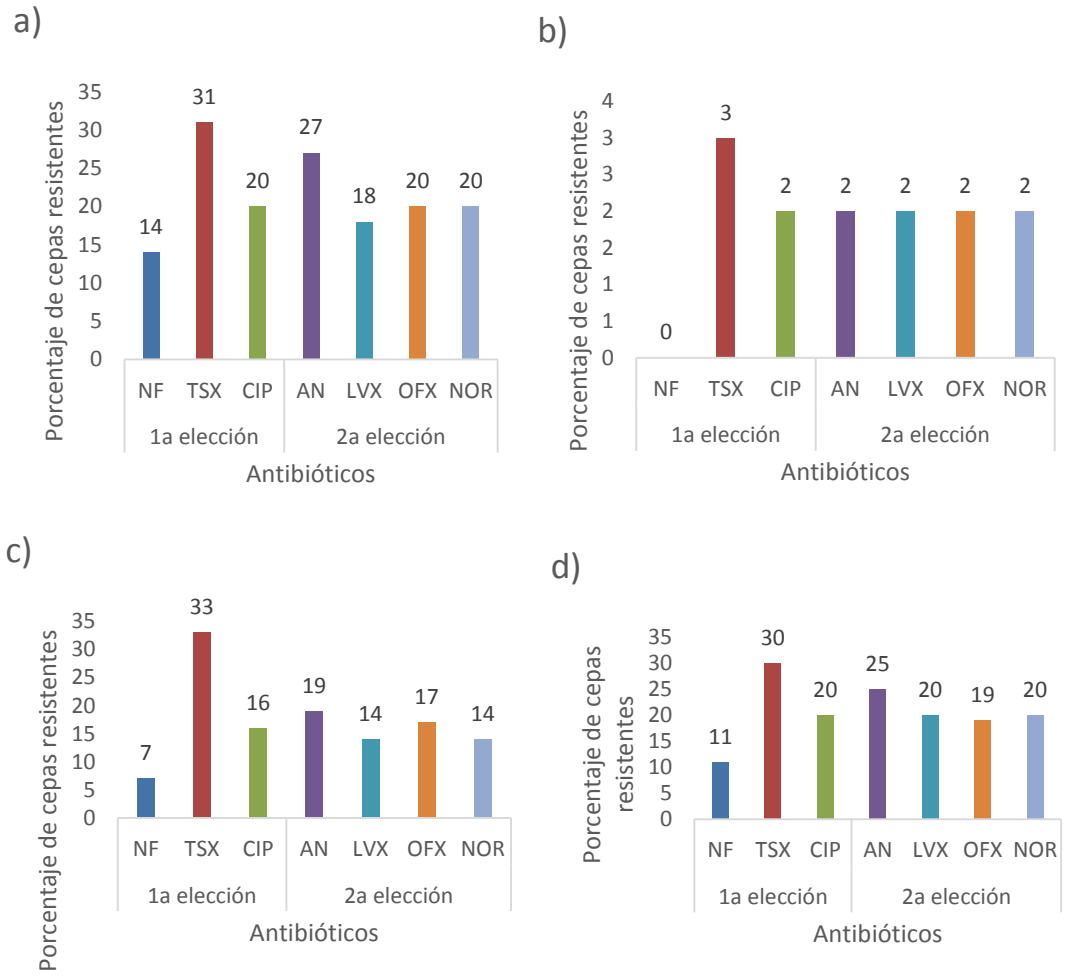


Figura 26. Relación entre resistencia a los antibióticos considerados de 1ª y 2ª elección por la Secretaría de Salud (SALUD, 2009) y grupos filogenéticos de cepas de *E. coli* (n=171) aisladas de ITU de pacientes hospitalizados. a) Cepas del filogrupo A (n=60); b) cepas del filogrupo B1 (n=3); c) cepas del filogrupo B2 (n=61); d) cepas del filogrupo D (n=47). NF: Nitrofurantoina, TSX: Trimetoprim/Sulfametoxazol, CIP: Ciprofloxacino, AN: Ácido Nalidíxico, LVX: Levofloxacina, OFX: Ofloxacina, NOR: Norfloxacina.

Análisis de resistencia a antibióticos y genes de virulencia

Para encontrar la relación entre la resistencia a antibióticos y el número de genes de virulencia, agrupamos a las cepas con base en el número promedio de antibióticos a los que son resistentes y el número de genes de virulencia que presentan (Ninguno, de 1 a 3, de 4 a 6 y de 7 a 9 genes de virulencia). En la grafica 16 se puede observar que las cepas con menor número de genes de virulencia son resistentes a un mayor número de antibióticos y visceversa.

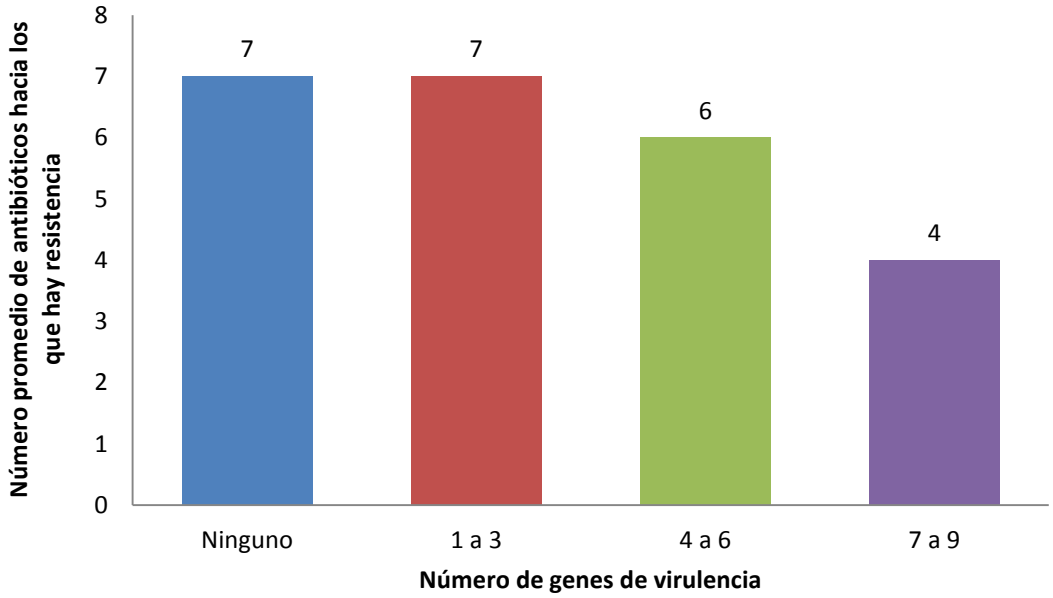


Figura 27. Relación entre el número promedio de antibióticos a los que las cepas de *E. coli* (n=171) aisladas de ITU de pacientes hospitalizados presentan resistencia y el número de genes de virulencia.

En cuanto a la cantidad de resistotipos que presentó cada grupo filogenético encontramos que el grupo con más resistotipos distintos fue el filogrupo A, seguido por el B2. Cabe resaltar que el resistotipo que abarca a todos los antibióticos analizados pertenece a cepas del grupo A (**Figura 28**).

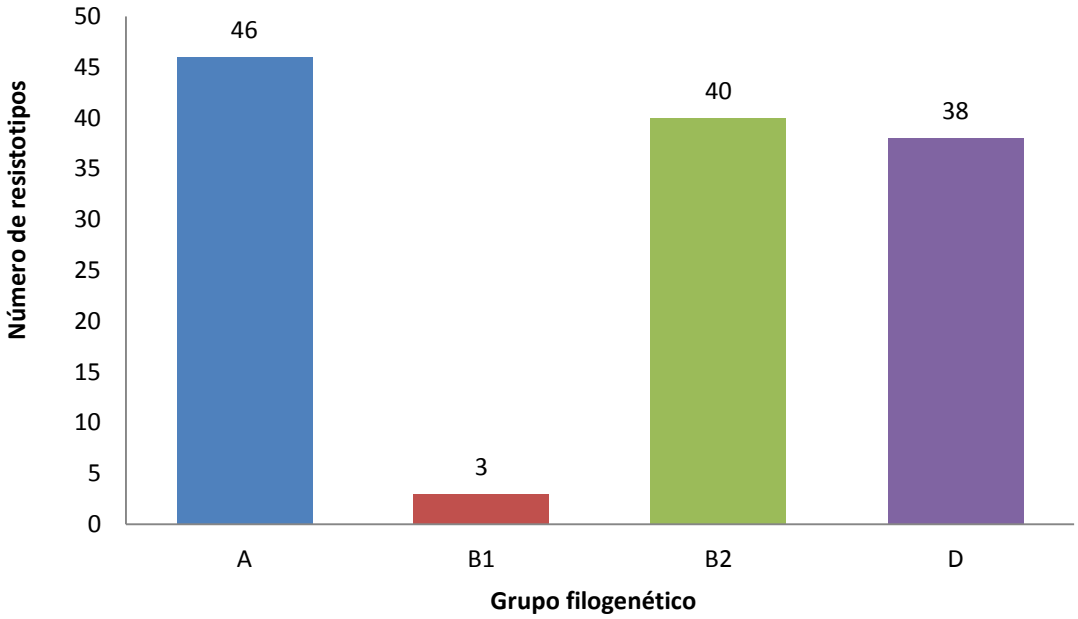
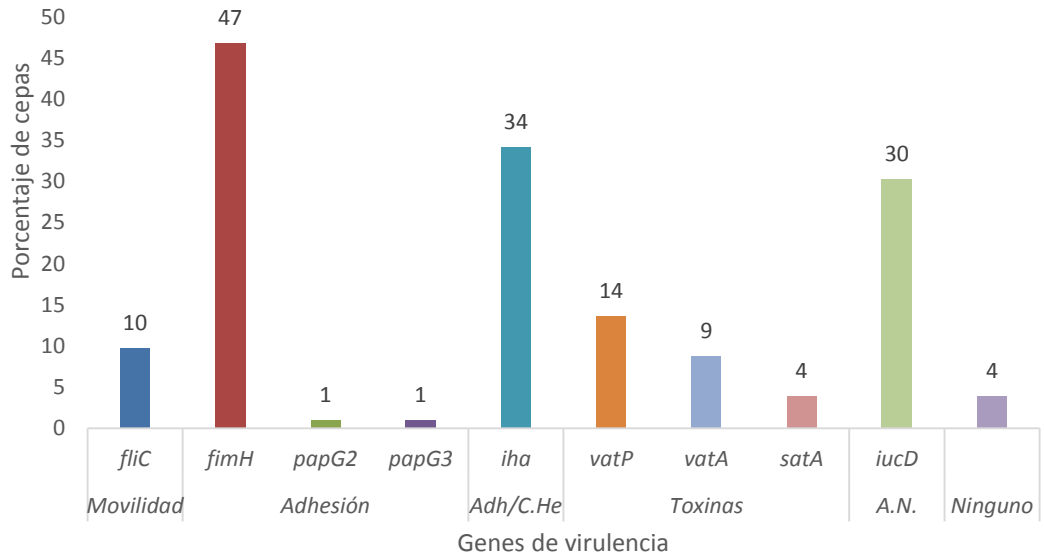


Figura 28. Número de resistotipos que contiene cada grupo filogenético de cepas de *E. coli* (n=171) aisladas de ITU de pacientes hospitalizados. Algunos resistotipos se repiten entre los filogrupos.

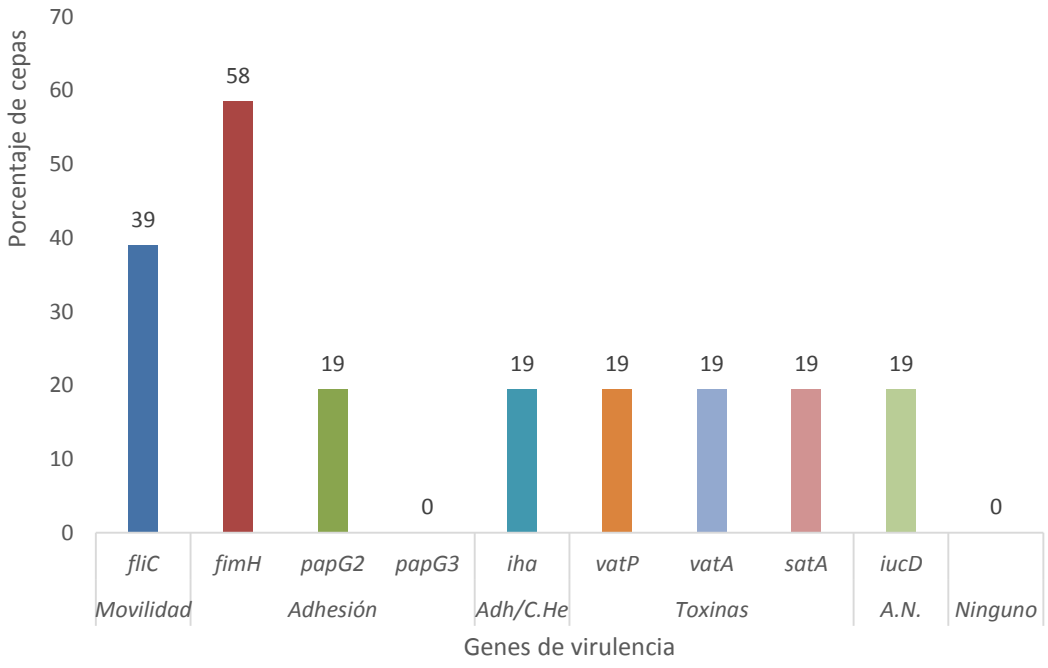
Análisis de los genes de virulencia y grupo filogenético

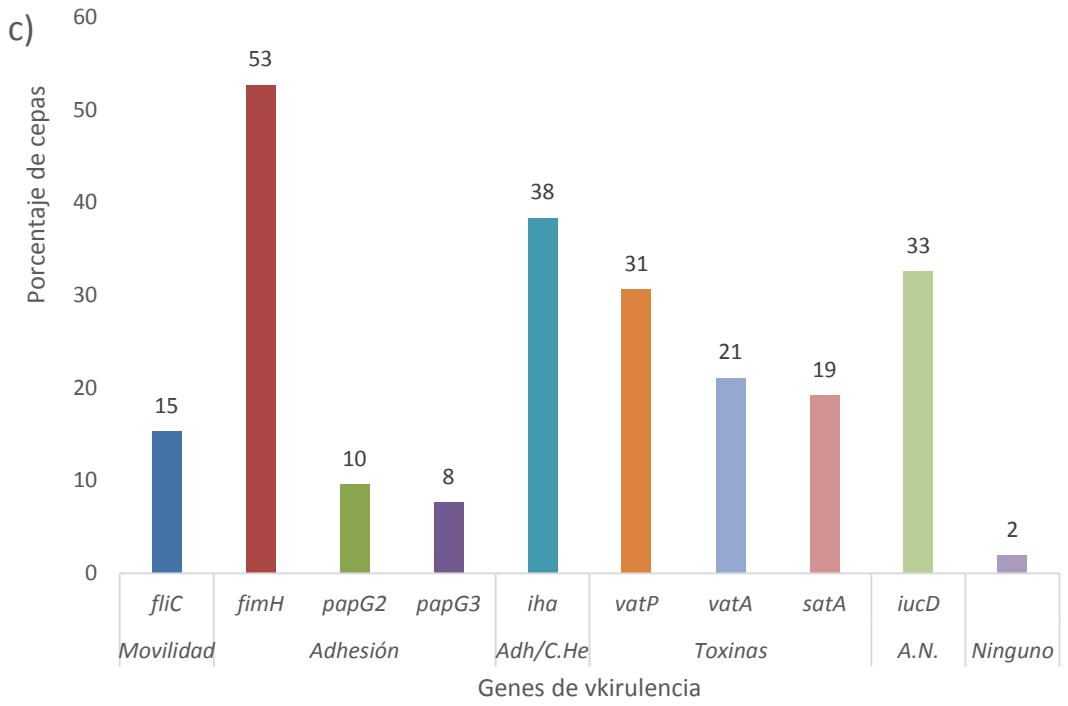
En cuanto a la relación entre genes de virulencia y el grupo filogenético de la cepa, el grupo filogenético B2 es el que contiene más genes de virulencia seguido por los grupos A y D, los genes que predominaron en los tres grupos fueron aquellos que participan en la adhesión, los genes de toxinas estuvieron principalmente en el grupo B2.

a)


Porcentaje de cepas
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
10
47
1
1
34
14
9
4
30
4
fliC
fimH
papG2
papG3
iha
vatP
vatA
satA
iucD
Movilidad
Adhesión
Adh/C.He
Toxinas
A.N.
Ninguno
Genes de virulencia

b)


Porcentaje de cepas
70
60
50
40
30
20
10
0
39
58
19
0
19
19
19
19
19
0
fliC
fimH
papG2
papG3
iha
vatP
vatA
satA
iucD
Movilidad
Adhesión
Adh/C.He
Toxinas
A.N.
Ninguno
Genes de virulencia



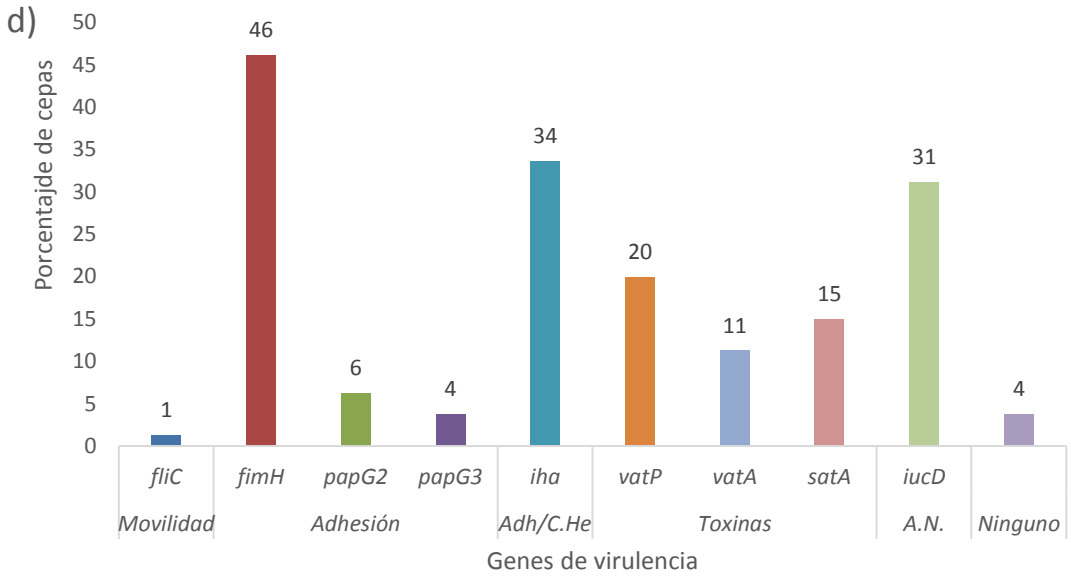
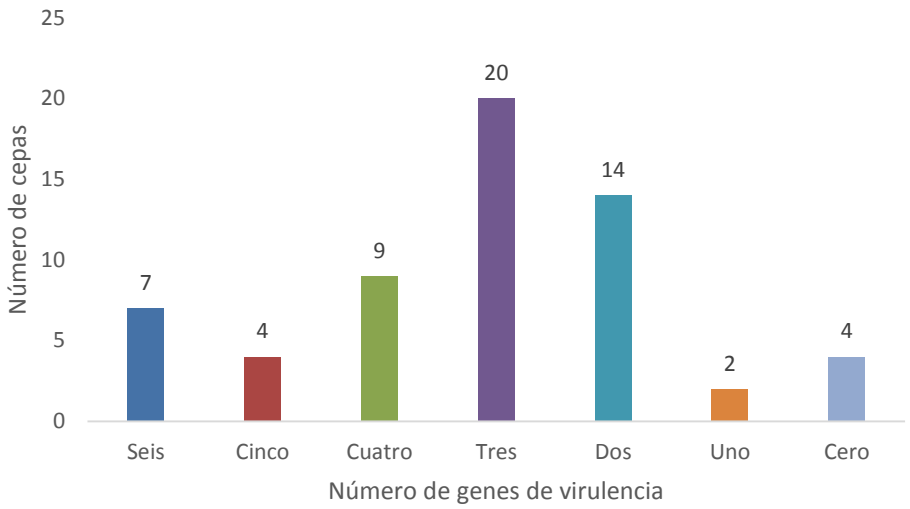


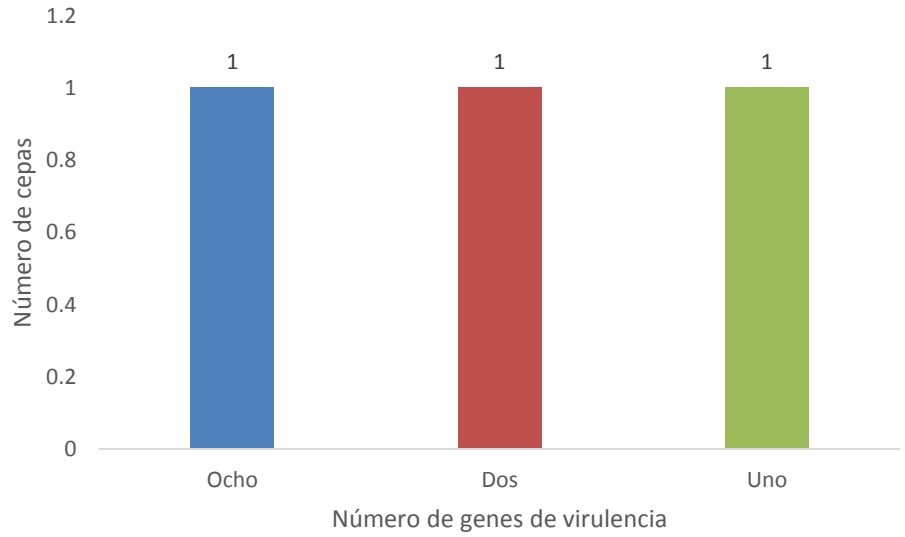
Figura 29. Relación entre genes de virulencia por grupo filogenético de cepas de *E. coli* (n=171) aisladas de ITU de pacientes hospitalizados. a) filogrupo A (n=60), b) filogrupo B1 (n=3), c) filogrupo B2 (n=61), d) filogrupo D (n=47). Adh/C. He= Adherencia y captación de hierro, A.N. Adquisición de nutrientes.

En el análisis de variabilidad genética por grupo filogenético encontramos que el número de genes es bastante similar entre los grupos filogenéticos cuando se analizó un rango de cero a dos y cuatro genes de virulencia, sin embargo, en el grupo filogenético A predomino la presencia de 3 y 6 genes de virulencia, mientras que en el grupo B2 predominó la presencia de cinco, siete, ocho y nueve genes de virulencia, una de las cepas B1 presentó ocho genes de virulencia.

a)



b)



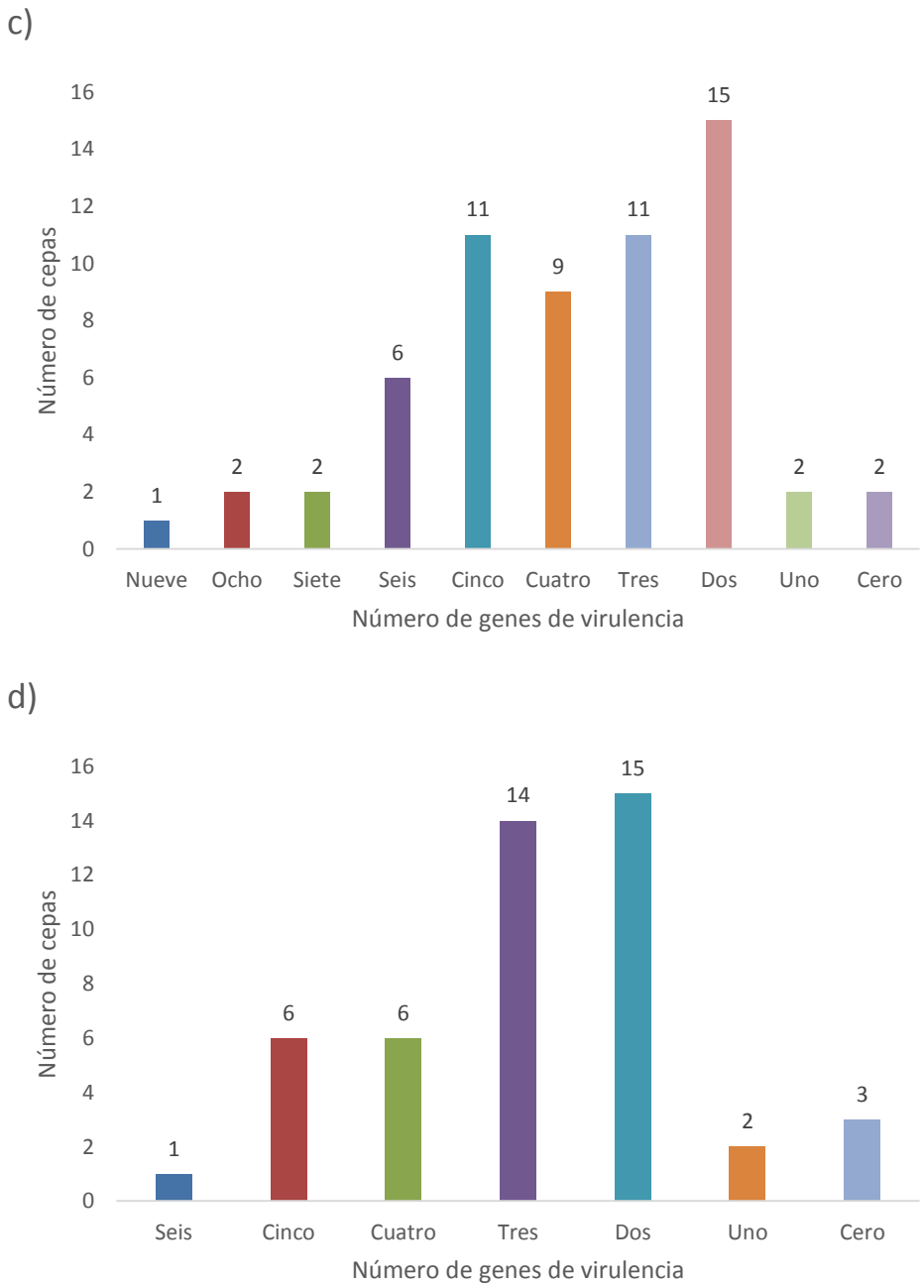


Figura 30. Variabilidad genética por grupo filogenético de cepas de *E. coli* (n=171) aisladas de ITU de pacientes hospitalizados. a) filogrupo A (n=60), b) filogrupo B1 (n=3), c) filogrupo B2 (n=61), d) filogrupo D (n=47).

Análisis de presencia de genes de virulencia y la resistencia a antibióticos

De igual forma analizamos la frecuencia con la que se encontraron los genes de virulencia en las cepas resistentes a cada uno de los 17 antibióticos que estudiamos (**Figua 31**).

En la gráfica podemos observar cómo se mantiene una relación directa entre la resistencia a ciertos antibióticos (ampicilina, cefalotina, cefuroxima, trimetoprim-sulfametoxazol y cloranfenicol) y la presencia de los genes de virulencia estudiados, sin embargo, también se observa el fenómeno contrario, en el que disminuye la presencia de los genes de virulencia *vatA, papGII* y *papGIII* en cepas resistenes a Netilmicina, gentamicinaceftazidima, ceftriaxona,Quinolonas (Ácido nalidíxico, levofloxacino, ciprofloxacino, ofloxacino y Norfloxacino).

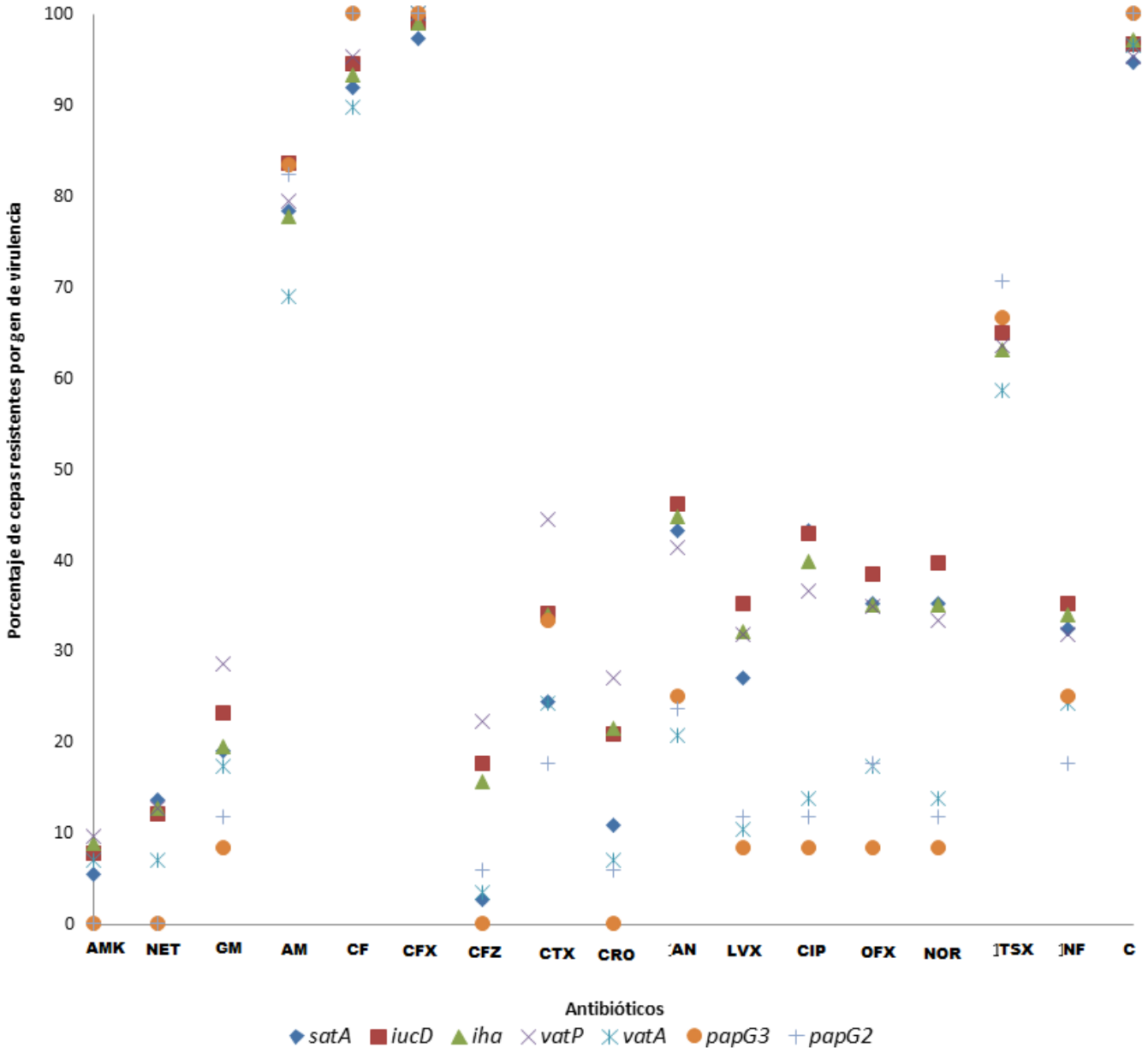


Figura 31. Asociación entre la presencia de cada gen de virulencia en las cepas que son resistentes a los antibióticos que estudiamos La figura nos muestra la frecuencia en que se encuentra cada gen de virulencia en las cepas resistentes a cada antibiótico estudiado. AMK= Amikacina, NET= Netilmicina, GM= Gentamicina, AM= Ampicilina, CF= Cefalotina, CFX= Cefuroxima, CFZ= Ceftazidima, CTX= Cefotaxima, CRO= Ceftriaxona. AN= Ácido nalidíxico, LVX= Levofloxacina, CIP= Ciprofloxacina, OFX= Ofloxacina, NOR= Norfloxacina, TSX= Trimetropim/Sulfametoxazol y NF= Nitrofurantoina, C= Cloranfenicol,

Discusión

Diversas fuentes a nivel nacional e internacional catalogan a las ITU como una de las principales causas de morbilidad afectando principalmente a mujeres en edad de entre 22 y 44 años (DGE, 2013, WHO, 2014), si bien para nuestro estudio no tuvimos con la edad de los pacientes, sí pudimos observar que las cepas analizadas provienen principalmente de mujeres, con lo que se corrobora la información consultada en la literatura con respecto a la población más susceptible.

La existencia de infecciones tanto poli- como monobacterianas ha sido reportado previamente (Hernández *et al.,* 2007), en nuestro estudio encontramos pacientes de los que se aislaron de una a cuatro cepas algunas aisladas del mismo servicio médico (2, 9 y 27 de urgencias, y 42 y 94 de pediatría), que pertenecen al mismo patotipo (9,27 y 42 a STEC) o al mismo grupo filogenético (2, 42, 94, 83 y 93 al grupo A). aun con esto, predominan aquellas infecciones causadas por una sola cepa.

Pese a que los meses de Abril, Junio y Octubre del 2006 fueron en los que se aisló un mayor número de cepas, el número de aislamientos no difiere significativamente de otros meses del año, por lo que no podemos hablar de un periodo específico en el que aumente la frecuencia de infecciones urinarias por *E. coli*.

Los servicios médicos de los que se recolectaron cepas con mayor frecuencia fueron nefrología, urología, urgencias y pedriatría. Si bien muchos de los estudios de pacientes nosocomiales con ITU se enfocan principalmente en el papel que juega el uso de catéteres uretrales en el desarrollo de una infección urinaria (Flores *et al.,* 2015) no se descarta la importancia que tiene el servicio médico en el que se encuentra internado el paciente, ya que la identificación de posibles fuentes de contaminación intrahospitalaria permite establecer medidas para prevenir complicaciones por infecciones nosocomiales (Peleg *et al., 2010;* Tagoe *et al.,* 2011).

Respecto a los serotipos predominantes en las cepas en estudio, los resultados son consistentes con los que se ha reportado en otros estudios tanto a nivel nacional como internacional y dentro nuestro equipo de trabajo (Wiles *et al.* 2008; Aroche, 2011; Molina-López *et al.* 2011; Molina, 2011; Martinez, 2012), es decir son serotipos asociados al patotipo UPEC. Siendo de notar las 10 cepas del serogrupo O25:H4, el cual ha sido asociado a clonas altamente virulentas (Molina-López *et al.* 2011). Cabe resaltar que también encontramos una alta frecuencia de cepas con serotipos asociados a DEC, principalmente a STEC (Toval *et al.* 2014) lo que sugiere que la ITU de aquellos pacientes de los que se aislaron estas cepas, pudieron sufrir de una infección adquirida por contaminación fecal, fenómeno que se ha reportado previamante (Yamamoto *et al.,* 1997; Nielsen *et al.,* 2014). Con respecto a esto, en este trabajo se encontro que el 3% de los casos las cepas de *E. coli* pertenecen a la categoría EAEC dentro de las DEC. El papel de EAEC como causante de ITU se registró por primera vez en 1991 duranter un brote de ITU en Dinamarca, y posteriormente durante el 2014 se reportó el caso de una una mujer de 55 años originaria de Suiza que adquirió una ITU durante un viaje a Filipinas, por lo que se ha sugerido que la expresión de FV específicos de EAEC tales como una fimbria de adherencia agregativa le confieren habilidades similares a las de UPEC para invadir al epitelio vesical (Boll *et al.* 2013; Herzog *et al.* 2014).

La clasificación filogenética mediante el PCR triple de Clermont ha sido ampliamente usada en estudios de clasificación molecular de cepas de *E. coli*. En nuestro país se han realizado muy pocos estudios de las cepas que causan ITU (Molina-lopez *et al.* 2011) en nuestro estudio hubo una prevalencia de cepas B2, lo cual concuerda con la mayoría de los reportes que establecen este grupo como el principal causante de ITU (Lee *et al.* 2010; Molina-López *et al.* 2011; Abdi *et al.* 2014) sin embargo también encontramos una elevada frecuencia de cepas del grupo A, esto ha llegado a reportarse en la bibliografía pero con menor frecuencia (Darehabi *et al.* 2013) ya que el grupo A abarca a cepas comensales y poco virulentas, sin embargo, es posible que las bacterias no necesitaran contar con los

genes de virulencia que buscamos para llevar a cabo su mecanismo de patogenicidad, esto ya que los pacientes de los que se aislaron las cepas estaban inmunocomprometidos, por lo que las cepas pudieron aprovecharse de esta condición del paciente para infectar el tracto urinario.

Previamente se ha registrado la resistencia hacia ampicilina y cefalosporinas de 1ª y 2ª generación esta es la razón por la que diversos organismos de salud encargados de establecer cuadros básicos de medicamentos no consideran a estos antibióticos para el tratamiento de infecciones urinarias (SALUD, 2009). En nuestro país la secretaría de salud recomienda el uso de nitrofurantoina como antibiótico de primera elección para el tratamiento de ITU dada su buena absorción y baja toxicidad, en nuestro estudio encontramos una alta frecuencia de cepas sensibles a este antibiótico (65%), por lo cual lo podemos considerar como un tratamiento efectivo contra *E. coli* causante de infecciones urinarias. Sin embargo, el hecho de haber encontrado cepas resistentes a nitrofurantoina y a otros antibióticos de primera y segunda elección en el tratamiento de ITU, sugiere que se deben de realizar chequeos de los perfiles de susceptibilidad antes de implementar un tratamiento o corregir este despúes de los estudios de antibiograma para evitar el desarrollo de cepas resistentes. Otros antibióticos recomendados como de primera elección por la Secretaria de salud son ciprofloxacino y trimetoprim/sulfametoxazol en el caso del primero también se encontró una alta frecuencia de cepas sensibles, aunque la frecuencia de cepas resistentes es similar a la que hay para NF (37 y 35% respectivamente) sin embargo el porcentaje de cepas resistentes a TSX supera al de cepas sensibles (60/40%) dejando a este antibiótico como el menos recomendable de los de primera elección contra ITU. La resistencia hacia TSX se ha reportado previamente en otros países como en el nuestro (García *et al.* 2008; Pallet *et al.* 2010), lo que descartaría a este antibiótico como parte del cuadro de tratamiento de ITU. Además, lo que podemos observar en forma preocupante al analizar los perfiles de susceptibilidad es que se están seleccionando en la mayoría de las cepas resistencia a otros antibióticos que no se usan para el tratamiento de ITU

como es el caso de aminoglucósidos (17%) y cloranfenicol con un sorprendente 97% de resistencia. El análisis de los perfiles de susceptibilidad de las cepas de *E. coli* hacia los antibióticos de 2a elección si bien muestra un porcentaje menor de resistencia en general (32%), para el cual dificilmente se encuentra el tratamiento con el antibiótico adecuado sobre todo si no se realiza su perfil de susceptibilidad antibiótica y la infección se puede complicar hasta llegar a sepsis y comprometer la vida del paciente (Wagenlehner *et al.*, 2008; Kalra *et al.*, 2009). La Secretaría de Salud (SALUD, 2008) establece que como parte del tratamiento oral de infección urinaria baja (cistitis) en niños mayores a tres meses se deben de considerar como antibióticos de primera elección a la nitrofurantoína, al trimetoprim-sulfametoxazol, a cefalosporinas de 1ª y 2ª generación y a amoxicilina con ácido clavulánico. Estos últimos no fueron parte de nuestro estudio, pero en lo que respecta a los demás antibióticos, podemos mencionar que solo la nitrofuarantoína mostró una actividad antimicrobiana efectiva hacia las cepas estudiadas, mientras que en el caso de trimetoprim-sulfametoxazol y las cefalosporinas de 1ª y 2ª generación (cefalotina y cefuroxima respectivamente) prevalecieron las cepas resistentes por sobre las sensibles. Mientras que en el caso de las infecciones complicadas (pielonefritis) la Secretaría de Salud recomienda una dosis única diaria de aminoglucósidos, o de cefalosporina de segunda (cefuroxima) o tercera generación (cefotaxima o ceftriaxona), como ya mencionamos, nuestros resultados muestran la inefectividad de un tratamiento a base de cefuroxima, sin embargo, los aminoglucósidos estudiados (gentamicina, netilmicina y amikacina) resultaron tener los índices de resistencia más bajos de entre los 17 antibióticos. De iguall forma hubo una baja frecuencia de cepas resistentes a cefotaxima y ceftriaxona. La efectividad de estos antibióticos y principalmente de aquellos hacia los que aun no se ha desarrollado resistencia, se debe de mantener bajo vigilancia. La sensibilidad hacia aminoglucósidos de las cepas resistentes a quinolonas los podría convertir en una alternativa ante la aparición de cepas resistentes a los antibióticos de 1a y 2a elección, sin embargo, los aminoglucósidos son conocidos por su nefro y ototoxicidad (Espinosa *et al.,* 2012), siendo NET, de los tres que probamos, el más

recomendable dada su baja toxicidad y el buen resultado que obtuvo en nuestro análisis (87% de las cepas fueron sensibles). Antimicrobianos como el Cloranfenicol, Tetraciclinas y Estreptomicina han quedado fuera de la terapia para el tratamiento de la infección urinaria, tanto por su inefectividad como por sus efectos toxicos colaterales (Vergara *et al.,* 2008).

La multirresistencia ha sido reportada como un fenómeno a nivel mundial, complicando el tratamiento de las ITUs y favoreciendo el desarrollo de infecciones crónicas y el daño renal. En nuestro estudio encontramos 89 resistotipos distintos que afectan principalmente el uso de entre tres y cuatro familias de antibióticos. Es importante la determinación de resistotipos para elegir el tratamiento en base no solo en las características del microorganismo, sino que también en los patrones de susceptibilidad (Mukherjee *et al.* 2013). Generalmente el tratamiento inicial es empírico utilizando antibióticos de primera elección e incluye la cobertura con antibióticos de amplio espectro y si bien el desarrollo de nuevos antibióticos es un proceso complicado y que la mayoría de las veces suele terminar en antibióticos inaccesibles al público, la constante vigilancia de las características de susceptibilidad puede ser una alternativa al control de las infecciones de tracto urinario.

La detección de genes de virulencia nos brinda un panorama de la capacidad y grado de daño al hospedero que tienen estas cepas , es decir, de la capacidad de provocar cistitis o hasta pielonefritis, o bien infecciones recurrentes en nuestro estudio así como en los de otros grupos de investigación se reporta al gen de la adhesina fimbrial (*fimH)* como el más común en *E. coli* tanto intestinal como extraintestinal y es que más que tener una función en el daño en el hospedero, la adhesina fimbrial le permite adherirse al epitelio intestinal y urinario ya que las células de ambos contienen los receptores de manosa, comúnmente usados como son los blancos específicos de *fimH* (Bien *et al.* 2012). Pero en UPEC cobra importancia la presencia de la fimbria o pili tipo 1 ya que se ha demostrado que las cepas que carecen de esta fimbria son menos virulentas, así que pili tipo 1 es un

elemento clave en el tropismo tisular y en el fenoméno de invasión de UPEC (Hanan, 2010)

En este estudio encontramos que los genes de virulencia más frecuentes fueron aquellos involucrados en la adherencia (*fimH* e *iha)* y al igual que en otros estudios, se encontró un predominio de cepas que contienen el alelo *papGII* por sobre las que contienen al *papGIII.* Otro gen frecuente entre nuestras cepas fue el de la aerobactina (*iucD*) lo cual puede hablarnos de la importancia por la adherencia y la adquisición de nutrientes (Matuzzi, 2008; Aroche, 2011, Molina, 2011; Martinez, 2012)

La presencia individual o simultánea de los genes de virulencia detectados nos brinda un panorama del mecanismo de patogenicidad que puede tener cada cepa estudiada (Mulvey *et al.,* 2002; Kaper *et al.,* 2004; Croxen *et al.* 2013). La detección de un alto número de cepas con *fimH, iha* e *iucD* nos indica que estas tienen la capacidad de adherirse al epitelio renal y adquirir el hierro necesario para su mantenimiento, sin embargo, los bajos índices de *fliC* y *satA* nos habla de que pocas de las cepas de *E. coli* estudiadas tienen la capacidad de desplazarse por el tracto urinario y tener un efecto tóxico sobre el epitelio renal y así sucesivamente según los patrones de presencia simultanea de los genes buscados.

Con el análisis de las diversas combinaciones de genes de virulencia podemos inferir las posibles rutas de patogenicidad que seguirá la bacteria, de esta forma podemos hablar de que las 41 cepas que detectamos con f*imH* e *iucD* pueden adherirse al uroepitelio y adquirir hierro del medio, las 26 cepas que contienen los genes *fimH, satA e iucD* tienen la capacidad de adherirse al uroepitelio, causar daño al epitelio renal y adquirir el hierro necesario para mantenerse, mientras que las 13 cepas con *fimH y fliC* solo pueden adherirse y desplazarse por el tracto urinario, mientras que las 50 cepas que solo contienen *fimH podrían* limitarse a adherirse al uroepitelio si es que no cuentan con un gen de virulencia que les permita usar un mecanismo de patogenicidad alternativo al que se basa en los genes que buscamos. Cabe resaltar que el hecho de que una cepa cuente con

menos genes de virulencia que otra no implica que no podrá participar en el desarrollo de la enfermedad, ya que el estado de salud depende del equilibrio de la triada ecológica y al tratarse de cepas provenientes de pacientes de un hospital infantil pueden existir en ellos deficiencias del sistema inmune que permiten que cepas habitualmente consideradas como comensales provoquen una enfermedad.

Sin embargo estos estudios se limitan a hablarnos de la capacidad de la bacteria con base en su contenido genético y más aún usando un grupo significativo pero limitado de genes de aquellos potencialmente patógenos con los que cuenta UPEC, hace falta el ampliar el número de genes de virulencia, realizar estudios de expresión génica e interacción bacteria-hospedero para tener un panorama más certero de los mecanismos de patogenicidad usados *in vivo* por las *E. coli* que infectan a la población mexicana.

A pesar de que se conocen varios factores que participan en el mecanismo de patogenicidad de UPEC todavia quedan por caracterizar otros que son específicos de las *E. coli* que causan ITU. Se ha secuenciado el genoma completo de algunas cepas prototipo de UPEC como la que usamos en este trabajo, la cepa CFT O73 y se sabe que poseen hasta 13 diferentes islas de patogenicidad o PAI que ocupan aproximadamente 672 kb que corresponde al 12.8% del genoma de UPEC, la longitud promedio de las PAIs oscila entre 32-123 kb y 131 genes son específicos de UPEC y varios de ellos aún no han sido caracterizados (Welch *et al.* 2002; Lloyd, 2007)

Se sabe que la predisposición de las mujeres por contraer ITU se debe a su anatomía, esto sugiere el papel que juegan las infecciones cruzadas por malas practicas higienicas; esta predisposición se puede corroborar en nuestro estudio en donde encontramos un predominio de cepas de *E. coli* del filogrupo A en mujeres. Este grupo engloba principalmente a cepas comensales y poco virulentas. Mientras que las cepas provenientes de hombres pertenecen principalmente al grupo B2, las cepas de este filogrupo contienen más genes de virulencia y en diferentes combinaciones como se ha reportado en otros estudios

(Naves *et al.*, 2008; Abdi *et al.,* 2014), lo cual favorece que las cepas puedan invadir, sobrevivir y desplazarse a lo largo de la uretra hasta colonizar la vejiga. Hay que considerar que en el filogrupo B2 hubo una menor frecuencia de resistencia a antibióticos a comparación de las cepas de los grupos A, en el que también se encontró un mayor número de resistotipos distintos, esto también ha sido reportado previamente en la literatura. Se postula que las cepas del filogrupo A pueden servir como la fuente de determinantes de resistencia antibiótica (Branger *et al.,* 2005).

Se ha propuesto que la expresión de genes de virulencia tiene una relación inversa con la resistencia a antibióticos, es decir el microorganismo reprime la expresión factores de virulencia para poder mantener los genes de resistencia adquiridos mediante EGM (Bien *et al.,* 2012) este fenómeno se observó en nuestros resultados ya que aquellas cepas que carecen o que tienen de uno a tres genes de virulencia son resistentes a un mayor número de antibióticos que aquellas que poseen de cuatro a nueve genes de virulencia. En otros estudios se ha encontrado una relación directa en cuanto a la presencia o ausencia de ciertos genes de virulencia y la resistencia hacia un determinado grupo de antibióticos, tal como observó Molina (2011) dentro de nuestro equipo de trabajo con las cepas de *E. coli* que carecían del gen de la hemolisina, pero eran resistentes a Cefalotina, trimetoprim-sulfametoxazol, levofloxacina y ceftriaxona.

En nuestro estudio hallamos una relación inversa entre la resistencia hacia aminoglucósidos, quinolonas y nitrofurantoina y la presencia de los genes *vatA* y *papGIII* y también entre la resistencia hacia Ceftazidima y ceftriaxona y la presencia de los genes *vatA, papGIII, satA* y *papGII.* Una relación similar fue reportada previamente por Velasco *et al.* en el 2001 cuando encontró que cepas carentes de los alelos del gen *papG* y que eran incapaces de causar pielonefritis y prostatitis mostraban una alta resistencia a quinolonas, cabe mencionar que el gen *papG* se encuentra dentro de una isla de patogenicidad. Estos resultados son similares a los que obtuvo Basu (2013) al analizar 100 cepas procedentes de

infección urinaria, encontrando que aquellas que poseían el alelo *papGII* eran más susceptibles a ácido nalidíxico y ciprofloxacino que aquellas que carecían dicho gen, de igual forma en nuestras cepas podemos observar que aquellas cepas que contienen *papGII* o *papGIII* son más suceptibles a quinolonas que aquellas que no los contienen.

En el caso de aquellas cepas que presentan resistencia hacia ampicilina, cefalotina, cefuroxima y cloranfenicol, y en las que además se encuentran todos los genes de virulencia estudiados, cabría analizar la localización de estos en el genoma bacteriano, puesto que podrían encontrarse dentro de algún elemento genético móvil, ya que está bien reportado el papel que juega la transferencia genética horizontal en el desarrollo de multirresistencia en cepas que infectan a pacientes nosocomiales (Vinué *et al.,* 2008).

Como podemos observar las cepas que analizamos cuentan con diversas características de virulencia que han sido reportadas previamente en la literatura internacional por lo que podemos hablar de que las cepas de *E. coli* que afectan a la población mexicana cuentan con una amplia variedad de características que deben de ser bien comprendidas y a las que hay que dar seguimiento si se quiere disminuir la incidencia que tiene este microrganismo sobre la población. Nuestro estudio nos ha permitido obtener valiosa información sobre las condiciones que presentan nuestras cepas en cuanto a sus determinantes de patogenicidad se refiere, además de poner en manifiesto las posibles modificaciones que se podría hacer al esquema de medicamentos que se aplica en nuestro país. Con esto esperamos contribuir en el tratamiento que se da a las infecciones urinarias que afectan a nuestra población.

Conclusiones

1. La mayoría de las cepas de *E. coli* fueron aisladas de pacientes del sexo femenino.
2. Se encontraron pacientes con ITU recurrentes de los que se aislaron de dos a cuatro cepas, algunas de estas cepas fueron aisladas del mismo servicio médico y pertenecían al mismo patotipo o grupo filogenético.
3. El servicio médico del que se aislaron más cepas fue nefrología.
4. Encontramos serotipos típicos de UPEC y de DEC, así como algunos que no se han asociado a algún patotipo.
5. Las cepas pertenecen principalmente al grupo filogenético B2.
6. Predominó la resistencia a ampicilina, cefalotina, cefuroxima, cloranfenicol y trimetoprim/sulfametoxazol. Mientras nitrofurantoína es la mejor opción para el tratamiento de ITU.
7. Predominaron las cepas multiresistentes, se encontraron 89 resistotipos distintos. Dos cepas son resistentes a todos los antibióticos analizados.
8. Los genes de virulencia predominantesparticipan en la adherencia y en la adquisición de hierro (*fimH*, *iha* y *iucD*). una cepa posee todos los genes de virulencia, y tres cepas solo carecen del alelo *papGII.*
9. Los genes de virulencia se detectaron en 50 patrones distintos.
10. Hay una menor frecuencia de cepas del filogrupo B2 resistentes a aminoglucósidos y quinolonas. Mientras que la resistencia hacia antibióticos de 1ª y 2ª elección predomina en cepas del filogrupo D.
11. Hay una relación inversa entre la presencia de genes de virulencia y la resistencia antibiótica.

Perspectivas.

1. Detectar factores de virulencia adicionales a los ya estudiados.
2. Determinar los perfiles plasmídicos de las cepas y realizar estudios de conjugación para determinar si hay movilidad de genes de virulencia y de resistencia.
3. Completar la caracterización de los patotipos por PCR múltiple.
4. Aplicar la metodología de PCR cuádruplex para hacer una clasificación filogenética según los nuevos filogrupos establecidos.
5. Realizar estudios de secuenciación multilocus (MLST) para establecer la distancia filogenética entre las cepas.
6. Determinar la expresión y funcionabilidad de los genes de virulencia estudiados.
7. Detección de los genes de resistencia a antibióticos de mayor relevancia epidemilógica.

ANEXO A) Resistotipos encontrados en las cepas analizadas

Aminoglucósidos			β-lactámicos						Quinolonas					Otros			Número de cepas
				Cefalosporinas													
				1a gen	2a gen	3a gen			1a gen	2a gen							
AMK	NET	GM	AM	CF	CFX	CFZ	CTX	CRO	AN	LVX	CIP	OFX	NOR	TSX	NF	C	
S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	22
S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	9
S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	7
S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S	R	6
S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	5
S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	5
S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R	4
S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	S	R	R	4
S	S	S	S	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	4
S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	4
S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	3
S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	3
S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	3
S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	3
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	2
R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	R	R	2
R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	2
R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	2
S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	2
S	S	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R	2
S	S	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	2
S	S	S	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	2
S	S	S	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	2
S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	2
S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R	2
S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	R	R	2
S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	2
S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	2
R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	S	R	1
R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	1
R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	1
R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	1
R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	1
R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	R	1
R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	1
R	R	S	R	R	R	S	S	S	R	S	R	S	S	R	S	R	1
R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	1
R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	1
R	S	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	1
R	S	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	1
S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	1
S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	1
S	R	R	R	R	R	S	R	S	R	S	R	S	R	R	R	R	1
S	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R	1

Aminoglucósidos			β-lactámicos						Quinolonas					Otros			# de cepas
				Cefalosporinas													
				1a gen	2a gen	3a gen			1a gen	2a gen							
AMK	NET	GM	AM	CF	CFX	CFZ	CTX	CRO	AN	LVX	CIP	OFX	NOR	TSX	NF	C	
S	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S	R	1
S	R	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	1
S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	1
S	S	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	R	R	1
S	S	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	1
S	S	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	1
S	S	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	1
S	S	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R	S	R	R	R	1
S	S	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	1
S	S	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	R	1
S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	1
S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	1
S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	1
S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	1
S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	1
S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	1
S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S	R	1
S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	R	S	R	1
S	S	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	1
S	S	S	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S	S	R	S	S	1
S	S	S	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	1
S	S	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	S	S	R	1
S	S	S	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	1
S	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	1
S	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	1
S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	R	1
S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	R	R	S	R	1
S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	1
S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	1
S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	1
s	s	s	s	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	1
S	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	1
S	S	S	S	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	1
S	S	S	S	R	R	S	R	S	R	S	R	S	S	S	R	R	1
S	S	S	S	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	1
S	S	S	S	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	1
S	S	S	S	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R	1
S	S	S	S	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	1
S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	1
S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	1
S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	1
S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	1
S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	1
S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	1
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	1

ANEXO B Patrones de variabilidad de presencia de los genes de virulencia

#Genes	Genes	# cepas	Cepas
9	fimH+fliC+satA+iucD+iha+vatP+vatA+papG3+papG2+	1	124
8	fimH+fliC+satA+iucD+iha+vatP+vatA+papG2+	3	62, 65, 129
7	fimH+fliC+satA+iucD+iha+vatP+vatA+	2	51, 66
	fimH+fliC+satA+iucD+iha+vatP+papG2+	1	144
6	fimH+fliC+iucD+iha+vatP+papG2+	1	146
	fimH+fliC+iucD+iha+papG3+papG2+	1	9
	fimH+fliC+iha+vatP+vatA+papG3+	1	150
	fimH+fliC+vatP+vatA+papG3+papG2+	1	1
	fimH+satA+iucD+iha+vatP+vatA+	1	170
	fimH+satA+iucD+iha+vatP+papG2+	1	82
	fimH+iucD+iha+vatP+vatA+papG3+	2	19, 149
	fimH+iucD+iha+vatP+vatA+papG2+	2	37, 48
5	fimH+fliC+iucD+iha+vatP+	2	36, 141
	fimH+fliC+vatP+vatA+papG2+	1	87
	fimH+satA+iucD+iha+vatP+	10	5, 15, 38, 86, 125, 136, 127, 128, 136, 161
	fimH+satA+iucD+iha+vatA+	2	74, 75
	fimH+satA+iucD+iha+papG3+	2	8 y 10
	fimH+iucD+iha+vatP+vatA+	1	71
	fimH+iucD+iha+vatP+papG2	1	31
	fimH+iha+vatP+vatA+papG3+	2	147, 148
	fliC+iucD+iha+papG3+papG2+	1	27
4	fimH+fliC+satA+iucD+	2	69, 169
	fimH+fliC+iha+vatP+	1	119
	fimH+fliC+iha+vatA+	4	138, 142, 143, 145
	fimH+fliC+vatP+vatA+	1	22
	fimH+satA+iucD+iha+	8	6, 12, 16, 63, 118, 120, 152, 167
	fimH+satA+iucD+vatA+	1	58
	fimH+iucD+iha+vatP+	8	2, 77, 83, 85, 88, 98, 29, 33
	fimH+iucD+iha+vatA+	1	72
	fimH+iha+vatP+vatA+	2	137, 171
3	fimH+fliC+iha+	1	100
	fimH+satA+iucD+	1	155
	fimH+iucD+iha+	9	114, 101, 64, 4, 20, 21, 44, 45, 50
	fimH+iucD+vatP+	1	134
	fimH+iha+vatP+	14	17, 28, 53, 54, 55, 59, 78, 80, 84, 97, 105, 106, 107, 108
	iucD+iha+papG2+	1	25
2	fimH+fliC+	3	162, 116, 92
	fimH+iucD+	16	3, 11, 13, 14, 23, 24, 34, 168, 67, 73, 89, 91, 93, 113, 131, 157
	fimH+iha+	8	112, 102, 115, 153, 46, 47, 7, 26
	fimH+vatA+	1	70
	fliC+iha+	1	42
	fliC+papG2+	1	57
	satA+iucD+	2	109, 56
	iucD+iha+	3	132, 104, 43
	iha+vatP+	3	79, 121, 154
	papG3+papG2+	1	165
1	fimH+	23	140, 151, 156, 159, 163, 164, 166, 18, 35, 40, 49, 52, 61, 68 , 90, 94, 95, 96, 99, 103, 111, 117, 130
	iucD+	4	30, 32, 60, 133
	iha+	2	76, 122
0	fimH-fliC-satA-iucD-iha-vatP-vatA-papG3-papG2-	9	39, 41, 81, 110, 123, 135, 139, 158 y 160

ANEXO C. Características generales de las 171 cepas de *E. coli*

Cepa	Servicio médico	Fecha de aislamiento	Serotipo	Patotipo	Filogenia			MDR	Resistencia a antibioticos										Resistencia		Genes de virulencia							Número de genes de virulencia
					Genes		Grupo		Aminoglucósidos			β-lactámicos				Fluoroquinolonas			OTROS				PCRm1				PCRm2			
					chuA	yjaA	TspaE		AMK	NET	GM	AM	CF	CFX	CFZ	CTX	CRO	AN	LVX	CIP	OFX	NOR	TSX	NF	C	S	R	fimH	fliC	satA	iucD	iha	vatP	vatA	papG3	papG2	
1	Hematología	13/09/2006	O6:H1	UPEC	+	+	B2	si	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	10	7	+	+	-	-	-	+	+	+	6
2	Urgencias	12/07/2006	O?:NM	N.I.	-	-	A	si	S	R	R	R	R	S	R	S	R	S	S	S	R	R	R	5	12	+	-	-	+	+	+	-	-	4
3	UTIP	15/11/2006	O?:H?	N.I.	-	-	A	si	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	11	6	+	-	-	+	-	-	-	-	2
4	Nefrología	21/06/2006	O164:NM	EIEC	-	+	A	si	S	S	S	R	R	S	S	S	R	S	S	S	R	S	R	11	6	+	-	-	+	+	-	-	-	3
5	Nefrología	13/07/2006	Fle6:H2	N.I.	+	-	D	si	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	12	5	+	-	+	+	+	+	-	-	5
6	Ped4	23/11/2006	O25:--	UPEC	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S	R	6	11	+	-	+	+	+	-	-	-	4
7	Neonat	15/11/2006	OR:H?	ETEC	-	-	A	si	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	13	4	+	-	-	+	-	+	-	-	2
8	Urgencias	23/08/2006	O3:NM	EAEC	-	+	A	si	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	12	5	+	-	+	+	+	+	-	+	5
9	Urgencias	12/07/2006	O4:NM	ETEC	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	12	5	+	+	-	+	+	+	-	+	+	6
10	Nefrología	11/07/2006	O7:NM	EHEC	+	-	D	si	S	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	S	R	R	7	10	+	-	+	+	+	-	-	+	-	5
11			OR:H4	N.I.	-	-	A	si	S	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	11	6	+	-	-	+	-	-	-	-	-	2
12	Gastro	06/12/2006	O?:NM	N.I.	+	-	D	si	S	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	12	5	+	-	+	+	+	-	-	-	-	4
13		01/11/2006	OR:H6	N.I.	+	-	D	si	S	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	12	5	+	-	-	+	-	-	-	-	-	2
14			O20:H?	EHEC	-	+	A	si	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	5	12	+	-	-	+	+	-	-	-	-	2
15			O25:H4	UPEC	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	S	R	6	11	+	-	-	+	+	+	-	-	-	5
16			O7:NM	EHEC	+	-	D	no	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	15	2	+	-	+	+	+	-	-	-	-	4
17	Nefrología	10/08/2006	OR:H?	ETEC	-	-	A	si	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	12	5	+	-	-	+	-	+	+	-	-	3
18			O86:H?	EPEC	+	-	D	si	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	6	11	+	-	-	+	-	-	-	-	-	1
19	Nefro	11/10/2006	O166:H?	ETEC	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	11	6	+	-	-	+	+	+	+	+	-	6
20	Ped1	11/04/2006	O115:H17	N.I.	-	-	A	si	S	S	S	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	3	14	+	-	-	+	+	+	-	-	-	3
21	Nefrología	23/11/2006	O?:NM	N.I.	-	+	A	si	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	3	14	+	-	-	+	+	+	-	-	-	3
22			O2:H6	UPEC	+	+	B2	no	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	15	2	+	+	-	-	-	+	+	-	-	4
23	Ped4	22/02/2006	O84:H34	N.I.	-	-	A	si	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	10	7	+	-	-	+	-	-	-	-	-	2
24	Endocrinol	13/09/2006	O?:H4	N.I.	+	+	B2	si	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	5	12	+	-	+	+	-	-	-	-	-	2

Cepa	Servicio médico	Fecha de aislamiento	Serotipo	Patotipo	Filogenia				MDR	Resistencia a antibioticos																Resistencia		Genes de virulencia									Número de genes de virulencia
					Genes			Grupo		Aminoglucósidos			β-lactámicos						Fluoroquinolonas					OTROS					PCRm1				PCRm2					
					chuA	yjaA	TspeE			AMK	NET	GM	AM	CF	CFX	CFZ	CTX	CRO	AN	LVX	CIP	OFX	NOR	TSX	NF	C	S	R	*fimH*	*fliC*	*satA*	*iucD*	*iha*	*vatP*	*vatA*	*papG3*	*papG2*	
25	Nefrologia		O7:NM	EHEC	+	-	-	D	no	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	14	3	-	-	-	+	+	-	-	-	+	3
26		03/04/2006	O102:H6	UPEC	+	-	-	D	si	S	S	S	S	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	7	10	+	-	-	-	+	-	-	-	-	2
27	Urgencias	12/07/2006	O4:NM	ETEC	+	+	-	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	12	5	-	+	-	+	+	-	-	+	+	5
28			O86:H18	EPEC	+	-	-	D	si	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	6	11	+	-	-	-	+	+	-	-	-	3
29	Pediatria 3	06/09/2006	O20:H9	ETEC	-	+	-	A	si	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	4	13	+	-	-	+	+	+	-	-	-	4
30			O?:NM	N.I.	-	+	-	A	si	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	0	17	-	-	-	+	-	-	-	-	-	1
31	Urología	11/01/2006	O136:H?	EIEC	+	-	-	D	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R	8	9	+	-	-	+	+	+	-	-	+	5
32		21/06/2006	O?:NM	N.I.	-	+	-	A	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R	8	9	-	-	-	+	-	-	-	-	-	1
33		12/05/2006	O?:NM	N.I.	-	+	-	A	si	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	3	14	+	-	-	+	+	+	-	-	-	4
34	Nefrologia	06/04/2006	OR:H4	N.I.	-	+	-	A	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	12	5	+	-	-	+	-	-	-	-	-	2
35	Ped 1	12/07/2006	O?:H11	N.I.	-	+	-	A	si	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	R	S	R	9	8	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
36	Urgencias	18/10/2006	O4:NM	ETEC	+	+	-	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	12	5	+	+	-	+	+	+	-	-	-	5
37	Nefrologia	11/01/2006	O?:NM	N.I.	-	+	-	A	si	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	3	14	+	-	-	+	+	+	+	-	+	6
38	Nefrología	19/10/2009	O153:H2	EHEC	+	-	-	D	si	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	13	4	+	-	+	+	+	+	-	-	-	5
39			O174:H21	EHEC	-	-	-	A	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	13	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
40	Tx interna	25/04/2006	O86:H18	EPEC	+	-	-	D	si	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	10	7	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
41	Nefro	14/06/2006	O166:H15	EHEC	+	-	-	D	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	R	R	S	R	10	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
42	Pediatria 1	22/08/2006	O20:H9	ETEC	-	+	-	A	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	12	5	-	+	-	-	+	-	-	-	-	2
43		11/01/2006	O?.H?	N.I.	-	+	-	A	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	6	11	-	-	-	+	+	-	-	-	-	2
44		12/10/2006	O8:NM	N.I.	-	-	-	A	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	12	5	+	-	-	+	+	-	-	-	-	3
45		01/11/2006	O166:H4	N.I.	-	+	-	A	si	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	13	4	+	-	-	+	+	-	-	-	-	3
46	Pediatria 3	25/05/2006	O25:H4	UPEC	+	+	+	B2	si	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	14	3	+	-	-	-	+	-	-	-	-	2
47	Nefro	14/06/2006	O166:H15	EHEC	+	-	-	D	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S	R	11	6	+	-	-	-	+	-	-	-	-	2
48			OR:H7	N.I.	+	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S	R	11	6	+	-	-	+	+	+	+	-	+	6

Cepa	Servicio médico	Fecha de aislamiento	Serotipo	Patotipo	Filogenia				MDR	Resistencia a antibioticos																		Resistencia		Genes de virulencia									Número de genes de virulencia
					Genes			Grupo		Aminoglucósidos			β-lactámicos						Fluoroquinolonas					OTROS						PCRm1				PCRm2					
					chuA	yjaA	TspE			AMK	NET	GM	AM	CF	CFX	CFZ	CTX	CRO	AN	LVX	CIP	OFX	NOR	TSX	NF	C	S	R	*fimH*	*fliC*	*satA*	*iucD*	*iha*	*vatP*	*vatA*	*papG3*	*papG2*	
49	UTIP	11/01/2006	O65:H32	N.I.	+	+	-	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	6	11	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
50			O101:H?	ETEC	-	+	-	A	si	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	13	4	+	-	-	+	+	-	-	-	-	3
51	Neonatolo	18/10/2006	O6:H1	UPEC	+	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	13	4	+	+	+	+	+	+	+	-	-	7
52	Oncología	13/06/2006	O8:H12	UPEC	+	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	5	12	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
53	UCIN	02/10/2006	OR:H10	N.I.	-	+	-	A	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	12	5	+	-	-	-	+	+	-	-	-	3
54	Urologia	01/11/2006	O8:H23	N.I.	-	-	-	A	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R	7	10	+	-	-	-	+	+	-	-	-	3
55	Oncología	15/05/2006	O25:H4	UPEC	+	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	6	11	+	-	-	-	+	+	-	-	-	3
56	Urgencias	05/05/2006	O25:H4	UPEC	+	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R	7	10	-	-	+	+	-	-	-	-	-	2
57			O4:NM	ETEC	+	+	-	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	12	5	-	+	-	-	-	-	-	-	+	2
58	Urgencias	19/07/2007	O18ac:H?	N.I.	+	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	12	5	+	-	+	+	-	-	+	-	-	4
59	T.Q.X.	14/08/2006	O153:H6	N.I.	+	-	-	D	si	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	2	15	+	-	-	-	+	+	-	-	-	3
60		13/10/2006	O166:H6	N.I.	+	-	-	D	si	S	S	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R	6	11	-	-	-	+	-	-	-	-	-	1
61	Nefrología	12/05/2006	O4:H6	N.I.	+	-	-	D	si	S	S	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	4	13	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
62	Oncología	11/01/2006	O6:H1	UPEC	+	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	12	5	+	+	+	+	+	+	+	-	+	8
63			O25:H4	UPEC	+	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	6	11	+	-	+	+	+	-	-	-	-	4
64			O1:H6	UPEC	+	-	-	D	si	S	R	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	5	12	+	-	-	+	+	-	-	-	-	3
65	Urgencias	15/08/2006	O6:H11	N.I.	-	-	+	B1	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	12	5	+	+	+	+	+	+	+	-	+	8
66	Cardiología	27/12/2006	O2:H1	UPEC	+	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	12	5	+	+	+	+	+	+	+	-	-	7
67	Ortopedia	06/04/2006	O1:H6	UPEC	+	-	-	D	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	S	R	R	7	10	+	-	-	+	-	-	-	-	-	2
68	Urgencias	08/02/2006	O154:H25	N.I.	-	-	+	B1	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R	7	10	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
69	Nefrologia	04/10/2006	O164:H4	EIEC	-	-	-	A	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	11	6	+	+	+	+	-	-	-	-	-	4
70	Urgencias	12/07/2006	O75:H5	UPEC	+	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	13	4	+	-	-	-	-	-	+	-	-	2
71	Urgencias	13/09/2006	O100:H?	ETEC	+	-	-	D	si	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	11	6	+	-	-	+	+	+	+	-	-	5
72	Nefrología	28/11/2006	O?:H?	N.I.	-	+	-	A	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R	7	10	+	-	-	+	+	-	+	-	-	4

Cepa	Servicio médico	Fecha de aislamiento	Serotipo	Patotipo	Filogenia				MDR	Resistencia a antibioticos												Resistencia		Genes de virulencia						Número de genes de virulencia
					Genes			Grupo		Aminoglucósidos			β-lactámicos					Fluoroquinolonas			OTROS				PCRm1				PCRm2		
					ohuA	ijaA	TspeE			AMK	NET	GM	AM	CF	CFX	CFZ	CTX	CRO	AN	LYX	CIP	OFX	NOR	TSX	NF	C	S	R	fimH	fliC	satA	iucD	iha	vatP	vatA	papG3	papG2	
73	UCIN	21/04/2006	O25:H4	UPEC	+	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	12	5	+	-	-	+	-	-	-	-	-	2
74	Nefrología	31/12/2005	OR:H?	ETEC	+	-	-	D	si	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	R	R	R	7	10	+	-	+	+	+	-	+	-	-	5
75	Urología	18/10/2006	O?:NM	N.I.	-	+	-	A	si	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	3	14	+	-	+	+	+	-	+	-	-	5
76	Urgencias	07/08/2006	OR:NM	N.I.	-	+	-	A	si	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	12	5	-	-	-	+	-	-	-	-	-	1
77	Medicina	31/08/2006	O?:NM	N.I.	-	+	-	A	si	S	S	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	R	7	10	+	-	-	+	+	-	-	-	-	4
78	Tx urgencia	14/09/2006	O102:H6	UPEC	+	-	-	D	si	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	2	15	+	-	-	+	+	-	-	-	-	3
79	Urología	08/02/2006	O?:NM	N.I.	-	+	-	A	no	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	13	4	-	-	-	+	+	-	-	-	-	2
80	Urgencias	24/05/2006	O6:H1	UPEC	+	-	-	D	si	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	5	12	+	-	-	+	+	-	-	-	-	3
81			O?:H?	N.I.	-	+	-	A	si	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	0	17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
82	Nefrología	14/08/2006	O2:H?	UPEC	+	-	-	D	si	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	12	5	+	-	-	+	+	+	+	-	-	6
83			O?:H?	N.I.	-	+	-	A	si	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	1	16	+	-	-	+	+	+	-	-	-	4
84			O17:H10	N.I.	-	-	-	A	si	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	12	5	+	-	-	+	+	+	-	-	-	3
85			O?:H4	N.I.	-	+	-	A	si	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	R	5	12	+	-	-	+	+	+	-	-	-	4
86	Urgencias	07/07/2006	O112ab:H21	EHEC	+	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	12	5	+	-	+	+	+	+	-	-	-	5
87	Urgencias	13/10/2006	O6:H1	UPEC	+	+	+	B2	si	S	S	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R	S	R	R	R	8	9	+	+	-	-	-	+	+	-	-	5
88			O2:H6	UPEC	+	+	+	B2	si	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	10	7	+	-	-	+	+	+	-	-	-	4
89			OR:H6	N.I.	+	-	-	D	si	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	4	13	+	-	-	+	-	-	-	-	-	2
90	Cx pediatría	29/06/2006	O?:H?	N.I.	-	+	-	A	si	S	S	S	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R	9	8	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
91	Cx	13/02/2006	O44:H?	N.I.	+	-	-	D	si	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	13	4	+	-	-	+	-	-	-	-	-	2
92	Tx intensiv	22/07/2006	O100:H1	N.I.	-	-	+	B1	si	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	3	14	+	+	-	-	-	-	-	-	-	2
93			O?:NM	N.I.	-	+	-	A	si	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	4	13	+	-	-	+	-	-	-	-	-	2
94	Pediatría 1	22/08/2006	O1:H6	UPEC	-	+	-	A	si	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	3	14	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
95	Urgencias	04/05/2006	O?:H6	N.I.	+	-	-	D	si	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	2	15	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
96		03/03/2006	O86:H18	EPEC	+	-	-	D	si	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	R	7	10	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1

Cepa	Servicio médico	Fecha de aislamiento	Serotipo	Patotipo	Filogenia				MDR	Resistencia a antibioticos																	Resistencia		Genes de virulencia									Número de genes de virulencia
					Genes			Grupo		Aminoglucósidos			β-lactámicos						Fluoroquinolonas					OTROS					PCRm1				PCRm2					
					chuA	yjaA	TspeE			AMK	NET	GM	AM	CF	CFX	CFZ	CTX	CRO	AN	LVX	CIP	OFX	NOR	TSX	NF	C	S	R	*fimH*	*fliC*	*satA*	*iucD*	*iha*	*vatP*	*vatA*	*papG3*	*papG2*	
97	Nefrología	13/06/2006	O?:H28	N.I.	+	-	+	D	si	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	4	13	+	-	-	-	+	+	-	-	-	3
98	Pediatria	17/02/2006	O20:NM	ETEC	-	+	-	A	si	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	5	12	+	-	-	+	+	+	-	-	-	4
99	Cirugia	20/06/2006	O?:H18	N.I.	+	-	-	D	si	R	S	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	9	8	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
100	Pediatria	19/01/2006	O?:NM	N.I.	-	-	-	A	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	R	R	11	6	+	+	-	-	+	-	-	-	-	3
101	T.Q.X.	14/08/2006	O?:NM	N.I.	-	+	-	A	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	S	R	R	7	10	+	-	-	+	+	-	-	-	-	3
102	Urgencias	14/07/2006	O?:H6	N.I.	+	-	-	D	si	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	2	15	+	-	-	-	+	-	-	-	-	2
103		03/04/2006	O102:H6	UPEC	+	+	+	B2	si	S	S	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	5	12	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
104	Urología	01/02/2006	O?:H6	N.I.	+	-	-	D	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	S	R	R	7	10	-	-	-	+	+	-	-	-	-	2
105	Pediatria 1	18/08/2008	O1:H6	UPEC	+	-	-	D	si	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	3	14	+	-	-	-	+	+	-	-	-	3
106			O?:H?	N.I.	+	+	+	B2	no	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	12	5	+	-	-	-	+	+	-	-	-	3
107			O120:H51	N.I.	+	+	-	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S	R	11	6	+	-	-	-	+	+	-	-	-	3
108			O129:H?	N.I.	-	+	-	A	si	R	R	S	R	R	R	S	S	S	R	S	R	S	S	R	S	R	8	9	+	-	-	-	+	+	-	-	-	3
109			O153:H2	EHEC	+	-	-	D	si	S	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S	R	9	8	-	-	+	+	-	-	-	-	-	2
110			O111ac:H38	N.I.	+	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	12	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
111			O135:NM	EIEC	-	+	-	A	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	12	5	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
112			O51:NM	EHEC	+	+	+	B2	si	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	11	6	+	-	-	-	+	-	-	-	-	2
113			O?:NM	N.I.	+	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	13	4	+	-	-	+	-	-	-	-	-	2
114			O?:NM	N.I.	+	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	12	5	+	-	-	+	+	-	-	-	-	3
115			O171:H19	N.I.	+	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	11	6	+	-	-	-	+	-	-	-	-	2
116			O171:H19	N.I.	-	-	-	A	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	12	5	+	+	-	-	-	-	-	-	-	2
117			O171:H?	N.I.	-	-	-	A	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	12	5	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
118			O44:H18	EAEC	+	-	-	D	si	S	S	S	S	R	R	S	R	S	R	S	R	S	S	S	R	R	10	7	+	-	+	+	+	-	-	-	-	4
119			O100:H?	ETEC	+	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	4	13	+	+	-	-	+	+	-	-	-	4
120			O?:H?	N.I.	+	-	-	D	si	S	S	S	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S	S	R	S	S	9	8	+	-	+	+	+	-	-	-	-	4

Cepa	Servicio médico	Fecha de aislamiento	Serotipo	Patotipo	Filogenia				MDR	Resistencia a antibioticos																		Resistencia		Genes de virulencia									Número de genes de virulencia
					Genes			Grupo		Aminoglucósidos			β-lactámicos						Fluoroquinolonas					OTROS						PCRm1				PCRm2					
					chuA	yjaA	TspeE			AMK	NET	GM	AM	CF	CFX	CFZ	CTX	CRO	AN	LVX	CIP	OFX	NOR	TSX	NF	C	S	R	*fimH*	*fliC*	*satA*	*iucD*	*iha*	*vatP*	*vatA*	*papG3*	*papG2*	
121			O150:NM	EHEC	+	-	-	D	si	S	S	S	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	10	7	-	-	-	-	+	+	-	-	-	2
122			O102:H6	UPEC	+	+	-	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	5	12	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1
123			O171:	N.I.	+	-	-	D	si	S	S	S	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	11	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
124			49766:	N.I.	+	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	12	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9
125			O153:	N.I.	+	-	-	D	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	12	5	+	-	+	+	+	+	-	-	-	5
126					+	+	+	B2	si	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	3	14	+	-	+	+	+	+	-	-	-	5
127					+	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	S	S	R	7	10	+	-	+	+	+	+	-	-	-	5
128					+	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	6	11	+	-	+	+	+	+	-	-	-	5
129					+	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	12	5	+	+	+	+	+	+	+	-	+	8
130					-	-	-	A	si	S	S	S	S	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	13	4	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
131					-	-	-	A	si	S	S	S	S	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	13	4	+	-	-	+	-	-	-	-	-	2
132					-	-	-	A	si	S	S	S	S	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	13	4	-	-	-	+	+	-	-	-	-	2
133					+	-	-	D	si	S	S	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	5	12	-	-	-	+	-	-	-	-	-	1
134			O70:H-	ETEC	+	-	-	D	si	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	3	14	+	-	-	+	-	+	-	-	-	3
135					+	-	-	D	si	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	3	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
136					+	+	+	B2	si	S	S	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R	6	11	+	-	+	+	+	+	-	-	-	5
137					+	+	+	B2	si	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	14	3	+	-	-	-	+	+	+	-	-	4
138					-	-	-	A	si	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	15	2	+	+	-	-	+	-	+	-	-	4
139					-	-	-	A	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	R	R	11	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
140					+	+	-	B2	si	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	14	3	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
141			O9:H-	N.I.	-	+	-	A	no	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	16	1	+	+	-	+	+	+	-	-	-	5
142					-	+	-	A	si	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	13	4	+	+	-	-	+	-	+	-	-	4
143			O81:H6	N.I.	-	-	-	A	no	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	15	2	+	+	-	-	+	-	+	-	-	4
144					+	-	-	D	si	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	14	3	+	+	+	+	+	+	-	-	+	7

Cepa	Servicio médico	Fecha de aislamiento	Serotipo	Patotipo	Filogenia				MDR	Resistencia a antibioticos																		Resistencia		Genes de virulencia									Número de genes de virulencia
					Genes			Grupo		Aminoglucósidos			β-lactámicos						Fluoroquinolonas					OTROS						PCRm1				PCRm2				
					chuA	yjaA	TspeE			AMK	NET	GM	AM	CF	CFX	CFZ	CTX	CRO	AN	LYX	CIP	OFX	NOR	TSX	NF	C	S	R	*fimH*	*fliC*	*satA*	*iucD*	*iha*	*vatP*	*vatA*	*papG3*	*papG2*	
145					-	-	-	A	si	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	7	10	+	+	-	-	+	-	+	-	-	4
146					+	+	-	B2	si	s	s	s	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	14	3	+	+	-	+	+	+	-	-	+	6
147					+	+	+	B2	si	s	s	s	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	14	3	+	-	-	-	+	+	+	+	-	5
148					+	-	-	D	si	S	S	S	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	10	7	+	-	-	-	+	+	+	+	-	5
149					+	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	11	6	+	-	-	+	+	+	+	+	-	6
150			O?:H7	N.I.	+	+	+	B2	no	s	s	s	s	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	13	4	+	+	-	-	+	+	+	+	-	6
151					+	+	-	B2	si	s	s	s	s	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	11	6	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
152					-	+	-	A	si	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	13	4	+	-	+	+	+	-	-	-	-	4
153					+	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	13	4	+	-	-	-	+	-	-	-	-	2
154					+	+	-	B2	si	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	13	4	-	-	-	-	+	+	-	-	-	2
155					+	+	+	B2	no	S	S	S	S	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	11	6	+	-	+	+	-	-	-	-	-	3
156					+	+	+	B2	no	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	14	3	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
157					+	-	-	D	si	s	s	s	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	12	5	+	-	-	+	-	-	-	-	-	2
158			O9:H7	N.I.	-	-	-	A	no	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	12	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
159					+	-	-	D	no	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	15	2	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
160					+	+	+	B2	si	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	S	R	4	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
161					+	+	+	B2	si	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	R	4	13	+	-	+	+	+	+	-	-	-	5
162					-	-	-	A	si	S	S	S	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	12	5	+	+	-	-	-	-	-	-	-	2
163					-	+	-	A	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	12	5	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
164					+	+	-	B2	si	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	14	3	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
165					+	-	-	D	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S	R	11	6	-	-	-	-	-	-	-	+	+	2
166					-	+	-	A	si	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	12	5	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
167					+	+	+	B2	si	S	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R	5	12	+	-	+	+	+	-	-	-	-	4
168			O25:H4	UPEC	+	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	11	6	+	-	-	+	-	-	-	-	-	2
169					+	+	+	B2	si	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	13	4	+	+	+	+	-	-	-	-	-	4
170			O?:H-	N.I.	+	+	+	B2	no	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	15	2	+	-	+	+	+	+	+	-	-	6
171					+	+	+	B2	no	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	14	3	+	-	-	-	+	+	+	-	-	4

Bibliografía

1. Abarca G. y Herrera M. 2001. Betalactamasas: su importancia en la clínica y su detección en el laboratorio. Rev. méd. Hosp. Nac. Niños (Costa Rica). 36 (1-2).
2. Abbadi S. Strockbine N. 2007. Identification of *Escherichia coli* flagellar types by restriction of the amplified *fli*C gene. Egpt. J. Med. Micr. 16 (2): 225-233.
3. Abdi H. & Rashki A. 2014. Comparison of Virulence Factors Distribution in Uropathogenic *E. coli* Isolates From Phylogenetic Groups B2 and D. Int J Enteric Pathog. **2**: 1-5.
4. Aguirre H., Plascencia A., Rivera C., Guerrero M. and Murillo V. 2007. Resistencia de *Escherichia coli* en infecciones de vías urinarias en pacientes pediátricos del hospital civil de Guadalajara ‘’Fray Antonio Alcalde’’. Enf. Inf. y Mic. 27 (3).
5. Allen P. Roberts I. Boulnois G. Saunders J. Hart C. 1987. Contribution of capsular polysaccharide and surface properties to virulence of *Escherichia coli* K1. Infect Immun. 55:2662–2668.
6. Ananias M. and Yano T. 2008. Serogroups and virulence genotypes of *Escherichia coli* isolated from patients with sepsis. Brazilian J. Med. Biol. Res. **41**:877-883.
7. Arenas M., Navarro A., Molina T., Martinez J., Aroche F., y Martinez Y. 2012. *Escherichia coli* Uropatógena. En modelos de la patogenesis de las enfermedades infecciosas II. Rocha García R., Lozano P. y Marinez Y. (Eds.) Publicación especial de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México.
8. Aroche Camarillo F. 2011. Determinación de serotipo, perfil de resistencia y presencia del gen *fliC* y *FimH* en cepas de *Escherichia coli* uropatógena (UPEC) Tesis de licenciatura. México. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
9. Asadi S., Kargar M., Solhjoo K. Najafi A. and GhorbaniDalini S., 2014. The Association of Virulence Determinants of Uropathogenic *Escherichia coli* with Antibiotic Resistance. Jundishapur J Microbiol. 7(5): 1-5.
10. Barragan A., Barriga G. y Calderón F. 2005. Primer consenso nacional de manejo antimicrobiano de infecciones de vías urinarias en el adulto. Boletin del colegio mexicano de urología; 20(2):46-57.
11. Bashir S., Haque A., Sarwar Y., Ali A. y Lifan M. 2012. Virulence profile of different phylogenetic groups of locally isolated community acquired uropathogenic *E. coli* from Faisalabad region of Pakistan. Ann Clin Microbio and Antimic. 11:23.
12. Basu S., Kumar S., Hazra A., Mukherjee M. 2013. Molecular Characterization of Uropathogenic *Escherichia coli*: Nalidixic Acid and Ciprofloxacin Resistance, Virulent Factors and Phylogenetic Background. J. Clin. Diag. Res. 7 (12): 2727-2731.
13. Bien J., Sokolova O. and Bozko P. 2012. Role of Uropathogenic *Escherichia coli* Virulence Factors in Development of Urinary Tract Infection and Kidney Damage. Int. Jour. Nep. doi:10.1155/2012/681473
14. Bindereif A, Neilands JB. 1985. Aerobactin genes in clinical isolates of Escherichia coli. J Bacteriol. 161(2):727–735.24.
15. Boll, E., Struve, C., Boisen, N., Olesen, B., Stahlhut, S., & Krogfelt, K. 2013. Role of Enteroaggregative Escherichia coli Virulence Factors in Uropathogenesis. *Inf Imm, 81*(4), 1164-1171. Peleg, A. Y., & Hooper, D. C. 2010. Hospital-Acquired Infections Due to Gram-Negative Bacteria. *N Engl J Med, 362*(19), 1804-1813.
16. Branger C., Zamfir O., Geoffroy S., Laurans G., Arlet G., Vu Thien H., Gouriou S., Picard B. and Denamur E. 2005. Genetic Background of *Escherichia coli* and Extendedspectrum â-Lactamase Type. Emerging Infectious Diseases. 11 (1).
17. Brumbaugh A. & Mobley H. 2012. Preventing urinary tract infection: progress toward an effective Escherichia coli vaccine. Expert Rev Vaccines 11: 663-676.
18. Calderón E., Casanova G., Galindo A., Gutiérrez P., Landa S., Moreno S., Rodríguez F., Simón L., Valdez R., 2013. Diagnóstico y tratamiento de las infecciones en vías urinarias: un enfoque multidisciplinario para casos no complicados. Bol Med Hosp Infant Mex. 70(1):3-10.

19. Caprioli A., Falbo V., Ruggeri F., Baldassarri L., Bisicchia R., Ippolito G., Romoli E. and Donelli G. 1987. Citotoxic necrotizing factor producton by hemolytic strains or *Escherichia coli* causing extraintestinal infections. J Clin Microbiol. **25** (1): 146-149.
20. Carbonetti N., Boonchai H., Parry S., Vfiisinen V., Korhonen T. and Williams P. 1986. Aerobactin-mediated iron uptake by *Escherichia coli* isolates from human extraintestinal infections. Infect. Immun. **51**:966-968.
21. Carbonetti NH, Williams PH. 1984. A cluster of five genes specifying the aerobactin iron uptake system of plasmid ColV-K30. Infect Immun. 46(1):7–12.
22. Caterino JM. 2008. Evaluation and management of geriatric infections in the emergency department. Emerg Med Clin North Am. 26:319-43.
23. Chromek M. And Braumer. 2008. Antimicrobial mechanisms of the urinary tract. J. Mol. Med.c86:37–47.
24. Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. 2000. Rapid and simple determination of the Escherichia coli phylogenetic group. *Appl Environ Microbiol. 66(10):4555-8.*
25. Clermont O., Christenson J., Denamur E. and Gordon D. 2012. The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: Improvement of specificity and detection of new phylo-groups. Env. Microbiol. Rep. doi:10.1111/1758-2229.12019.
26. CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement.* CLSI document M100-S23. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.
27. Cooke N., Smith S., Kelleher M., and Rogers T. 2010. Major Differences Exist in Frequencies of Virulence Factors and Multidrug Resistance between Community and Nosocomial *Escherichia coli* Bloodstream Isolates. J Clin Microbiol. Apr; 48(4): 1099–1104.
28. Darehabi H., Hassan M., Menbari S., Mobaleghi J. & Kalantar E. 2013. Isolated from Frozen Foods and Children with Diarrhea in Sanandaj, Iran. Int J Entric Pathog **1**: 1-4.
29. Diaz Alvarez M, Acosta Batista Barbara, Arango Arias, MI, Claver Asis D, Hernandez Robledo E. 2007. Microorganismos diferentes a *E.coli* en la infección del tracto urinario neonatal y anomalías del tracto urinario, Ciudad Habana.
30. E. Struve C. Boisen N. Olesen B. Stahlhut S. and Krogfelt K. 2013. Role of Enteroaggregative *Escherichia coli* Virulence Factors in Uropathogenesis. Infect. Immun. **81**(4): 1164-1171.
31. Espinosa Fernando. 2012. Terapéutica en Enfermedades Infecciosas. 6 ed. México.
32. Espinoza J, Michelli E, De Donato M. 2009. Frecuencia y susceptibilidad antibiótica de enterobacterias aisladas de urocultivos, en comunidades del estado Sucre, durante el lapso 2005-2006. Salus online. Enterobacterias y urocultivos p.33
33. Ewers C, et al. 2007. Avian pathogenic, uropathogenic, and newborn meningitis-causing *Escherichia coli*: how closely related are they? Int J Med Microbiol. 297:163–176.
34. Fakruddin M., Mohammad R., Chowdhury A., Shahnewaj K. 2013. A preliminary study on virulence factors & antimicrobial resistance in extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) in Bangladesh. Indian J Med Res. **137**(5): 988–990.
35. Fathollahi S., Yousefi R., Taghi M., Hajilloei M., Hemati S., Mostafaei A. y Sadeghian S. Typing of the uropathogenic *E.coli* strains using O-serotyping and detection of pap adhesion-encoding operon by polymerase chain reaction. *Iranian Journal of Clinical Infectious Disease 2009;4(2):77-81.*
36. Fatima N., Agrawal M., Shukla I. & Anwar P. 2012. Characterization of Uropathogenic *E. coli* in relation to virulence Factors. Open Access Scientific Reports 1: 1-4.
37. Fernández Alzueta A. 2008. Aplicaciones Fitoterapéuticas Del Arándano Rojo Prevención De Las Infecciones Del Tracto Urinario, Vol 27 Núm 9.
38. Flores A., Walker J., Caparon M. & Hultgren S. 2015. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. Nat Rev **13**: 269-284.
39. Foxman B., Brown P. 2003. Epidemiology of urinary tract infections: transmission and risk factors, incidence, and costs. Infect Dis Clin North Am. 2003 Jun;17(2):227-241.

40. Gamero Antón M, Rodríguez Fernández LM. 2011. Infección del tracto urinario. Nefrología pediátrica. Manual práctico. Panamericana.: 429-433.
41. García M., Gallardo M., Rodríguez R., Ropero F., Granados E., Viciana M., Gutiérrez A. y Pinedo A. 2008. Distribución de los patrones de sensibilidad de Escherichia coli intrahospitalario y extrahospitalario y los fenotipos de resistencia asociados durante el año 2005. Rev Esp Quimioter. **21**(3):157-165.
42. García R., Sotelo N., Gutiérrez P. & Rea A. 2014. Revisión sucinta de las enfermedades renales en niños de un hospital de pediatría del noroeste de México. Rev. Mex. Pediatr. 81(6): 226-228.
43. Gordon D., Clermont O., Tolley H. and Denamur E. 2008. Assigning *Escherichia coli* strains to phylogenetic groups: multi-locus sequence typing versus the PCR triplex method. Env. Microbiol. **10**(10), 2484–2496.
44. Guajardo C., González P. y Ayala J. Resistencia antimicrobiana en la infección urinaria por *Escherichia coli* adquirida en la comunidad. ¿Cuál antibiótico voy a usar? Salud Publica Mex 2009; 51:155-158.
45. Gupta K., Hooton T., Naber K., Wullt B., Colgan R., Miller L., Moran G., Nicolle L., Raz R., Schaeffer A. and Soper D. 2011. International Clinical Practice Guidelines for the Treatment of Acute Uncomplicated Cystitis and Pyelonephritis in Women: A 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. CID 2011:52
46. Guyer M., Henderson I., Nataro J. and Mobley H. 2000. Identification of Sat, an autotransporter toxin produced by uropathogenic *Escherichia coli*. Mol. Microbiol. **38**: 53-66.
47. Guyer M., Radulovic S., Jones F. and Mobley H. 2002. Sat, the secreted autotransporter toxin of uropathogenic *Escherichia coli* is a vacuolating cytotoxin for bladder and kidney epithelial cells. Infect. Immun. **70**: 4539-4546.
48. Hannan T., Totsika M., Mansfield K., Moore K., Schembri M, and Hultgren S. 2013. Host-Pathogen Checkpoints and Population Bottlenecks in Persistent and Intracellular Uropathogenic *E. coli* Bladder Infection. FEMS Microbiol Rev.36(3): 616–648
49. Hernández Blas F, López Carmona JM, Rodríguez Moctezuma JR, Peralta Pedrero ML, Rodríguez Gutiérrez RS, Ortiz Aguirre AR. Frecuencia de bacteriuria asintomática en embarazadas y sensibilidad antimicrobiana *in vitro* de los uropatógenos. Ginecol Obstet Mex 2007; 75:325-31 Vol
50. Herzer P., Inouye S., Inouye M. and Whittam T. 1990. Phylogenetic Distribution of Branched RNA-Linked Multicopy Single-Stranded DNA among Natural Isolates of *Escherichia coli.* J Bacteriol. **172(11):** 6175-6181.
51. Herzog K, Engeler Dusel J, Hugentobler M, Beutin L, Sägesser G, Stephan R, Hächler H, Nüesch-Inderbinen M. 2014. Diarrheagenic enteroaggregative *Escherichia coli* causing urinary tract infection and bacteremia leading to sepsis. Infection. **42**(2):441-4.
52. Horowitz M, Cohen J. 2007. Review of adolescent urinary tract infection. Curr Urol Rep. 8:319-323.
53. Hull R., Gill R., Hsu P., Minshew B. and Falkow S. 1981. Construction and expression of recombinant plasmids encoding type 1 or Dmannose- resistant pili from a urinary tract infection *Escherichia coli* isolate. Infect. Immun. **33**(3):933 8.
54. Jadhav S., Hussain A., Devi S., Kumar A., Parveen S., Gandham N., Wieler L., Ewers C. and Ahmed N. 2011. Virulence characteristics and genetic affinities of multiple drug resistant uropathogenic *Escherichia coli* from a semi urban locality in India. PLoS ONE **6**(3):1-7.
55. Johnson J., Moseley S., Roberts P. and Stamm W. 1988. Aerobactin and other virulence factor genes among strains of *Escherichia coli* causing urosepsis: association with patient characteristics. Infect. Immn. **56**(2): 405-412.
56. Johnson J., Stell A., Delavari P., Murray A., Kuskowski and Gaastra W. 2001. Phylogenetic and pathotypic similarities between *Escherichia coli* isolates from urinary tract infections in dogs and extraintestinal infections in humans. J. Infect. Dsses. **183**:897–906.
57. Johnson J., Van der Schee C, Kuskowski M. Goessens W, van Belkum A. 2002. Phylogenetic background and virulence profiles of fluoroquinolone-resistant clinical *Escherichia coli* isolates from the Netherlands. J Infect Dis. **186**:1852–6.
58. Kalra, O. P., & Raizada, A. 2009. Approach to a Patient with Urosepsis. *J Glob Infect Dis, 1*(1), 57-63.
59. Kaper J., Nataro J. and Mobley H. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. Nat. Rev. Microbiol. **2**(2):123-40.

60. Kasper D., Braunwald E, Fauci A., Hauser S, Longo D, Jameson L, Isselbacherk, Eds. Principios de Medicina interna de Harrison's. 16a ed. México: McGraw-Hill; 2005.
61. Kausar Y., Chunchanur S., Nadagir S., Halesh L. and Chandrasekhar. M. 2009. Virulence factors, Serotypes and Antimicrobial Suspectibility Pattern of *Escherichia coli* in Urinary Tract Infections. Al Ameen J Med S ci. **2**(1):4 7 -5 1.
62. Kim S., Kim M., Cho Y., Cho I. and, Lee G. 2010. Virulence characteristics and phylogenetic background of ciprofloxacin resistant *Escherichia coli* in the urine samples from Korean women with acute uncomplicated cystitis. J Korean Med Sci.;**25**(4):602-607.
63. Lally E., Blake R., Kieba I. and Korostoff J. 1999. The interaction between RTX toxins and target cells. Tren. Microbiol. **7**(9):356–361.
64. Landgraf T. Berlese A., Fernandes F., Milanezi M., Martinez R. and Panunto A. 2012. The ferric aerobactin receptor IutA, a protein isolated on agarose column, is not essential for uropatogenic *Escherichia coli* infection. Rev. Lat. Am. Enfermagem. **20** (2): 340-345.
65. Lane M. and Mobley H. 2007. Role of P-fimbrial-mediated adherence in pyelonephritis and persistence of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) in the mammalian kidney. Kidn. Intern. **72**: 19–25.
66. Lane M., Alteri C., Smith S. and Mobley H. 2007. Expression of flagella is coincident with uropathogenic *Escherichia coli* ascension to the upper urinary tract. PNAS. **104(**42):16669-16674.
67. Lane MC, et al. 2007. Expression of flagella is coincident with uropathogenic Escherichia coli ascension to the upper urinary tract. Proc Natl Acad Sci U S A.; 104:16669–16674.
68. Lautenbach E. and Polk R. 2007. Resistant gram-negative bacilli: Aneglected healthcare crisis? Am. J. Health-Syst Pharm. 64:3-21.
69. Le Bouguenec C., Archambaud M. and Labigne A. 1992. Rapid and specific detection of the pap, afa, and sfa adhesin- encoding operons in uropathogenic *Escherichia coli* strains by polymerase chain reaction. J. Clin. Microbiol. **30**(5):1189-1193.
70. Lecointre, G., Rachdi L., Darlu. And Denamur E. 1998. *Escherichia coli* Molecular Phylogeny Using the Incongruence Length Difference Test. Mol. Biol. Evol **15**(12): 1685–1695.
71. Lee S., Kyung J., Park K., Oh E., Kim S. and Park Y. 2010. Phylogenetic Groups and Virulence Factors in Pathogenic and Commensal Strains of Escherichia *coli* and Their Association with blaCTX-M. Ann Clin Lab Scie. **40** (4): 361-367.
72. Leffler H., Svanborg C. 1980. Chemical identification of a glycosphingolipid receptor for *Escherichia coli* attaching to human urinary tract epithelial cells and agglutinating human erythrocytes. FEMS Microbiol. Lett. **8**:127 _ 34.
73. Levin B. R., M. Lipsitch, V. Perrot, S. Schrag, R. Antia, L. Simonsen, N. Moore Walker, and F. M. Stewart. 1997. The Population Genetics of Antibiotic Resistance. Clin. Infect. Diss. **24**(1):9-16.
74. Ley General de Salud. 2009. Secretaría de Salud. México. http://www.normateca.gob.mx/Archivos/50_D_2074_11-06-2009.pdf
75. López D., Carrillo E., Leyva M., Orozco G., Manjarrez A., Arroyo S., Moncada D., Villanueva S., Xicoténcatl J. & Hernández R. 2014. Identification of Virulence Factors Genes in *Escherichia coli* Isolates from Women with Urinary Tract Infection in Mexico. BioMed Research International 2014: 1 -1056.
76. Loughman J. and Hunstad D. 2011. Attenuation of human neutrophil migration and function by uropathogenic bacteria. Microbes Infect. **13**(6): 555–565.
77. Lüthje P. & Brauner A. 2014. Chapter Seven. Virulence Factors of Uropathogenic E. coli and Their Interaction with the Host. Adv Microbiol Physiol. **66**: 337-372.
78. Mandal J., Acharya S., Buddhapriya D. y Chandra S. 2012. Antibiotic resistance pattern among common bacterialuropathogens with a special reference to ciprofloxacinresistant *Escherichia coli.* INDIAN J MED RES. 136. pp 842-849.
79. Marrs C., Zhang L., and Foxman B. 2005. Escherichia coli mediated urinary tract infections: Are there distinct uropathogenic E. coli (UPEC) pathotypes? FEMS Microb. Lett. 252: 183–190

80. Martínez J. 2012. Determinación del serotipo y presencia de genes de virulencia en cepas de *E. coli* uropatógena (UPEC) multirresistentes. Tesis de licenciatura. México. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
81. Molina T. 2011. Serotipificación, perfil de resistencia antimicrobiana y presencia de los genes *pap* y *hlyA* en *E. coli* uropatógena (UPEC). Tesis de licenciatura. México. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
82. Molina-López J, Aparicio-Ozores G, Ribas-Aparicio RM, Gavilanes-Parra S, Chávez-Berrocal ME, Hernández-Castro R, Manjares-Hernández HA. 2011. Drug resistance, serotypes, and phylogenetic groups among uropathogenic *Escherichia coli* including O25-ST131 in Mexico City. J. Infect. Dev. Ctrie*.,* 13; (12):840-9.
83. Momtaz H, Karimian A, Madani M, Safarpoor F, Ranjbar R, Sashar M, Souod N. 2013 Uropathogenic *Escherichia coli* in Iran: Serogroup distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties. Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob. 12(8): 1-12.
84. Montgomerie J. Z., Bindereif A., Neilands J. B., Kalmanson G. M., and Guze L. B. 1984. Association of hydroxamate siderophore (aerobactin) with *Escherichia coli* isolated from patients with bacteremia. Infect. Immun. **46**:835-838.
85. Moreno E., Prats G., Sabate M., Pérez T., Johnson J. and Andreu A. 2006. Quinolone, fluoroquinolone and trimethoprim/sulfamethoxazole resistance in relation to virulence determinants and phylogenetic background among uropathogenic *Escherichia coli.* J. Antimic. Chem. 57, 204–211
86. Mukherjee, M., Basu, S., Mukherjee, S. K., & Majumder, M. 2013. Multidrug-Resistance and Extended Spectrum Beta-Lactamase Production in Uropathogenic E. Coli which were Isolated from Hospitalized Patients in Kolkata, India. Journal of Clinical and Diagnostic Research **7**(3), 449–453.
87. Mulvey M. 2002. Adhesion and entry of uropathogenic *Escherichia coli.* Cell Microbiol. **4**(5), 257–271.
88. Murray P., Rosenthal K., and Pfaller M. Microbiología Médica. 7a edición. Elsevier. ISBN:9788490224113.
89. Mysorekar I. and Hultgren S. 2006. Mechanisms of uropathogenic *Escherichia coli* persistence and eradication from the urinary tract Department of Molecular Microbiology, Washington University School of Medicine. 14170 –14175 PNAS. 103 (38).
90. Narciso A., Numes F., AmoresT., Lito L., Melo-Cristino J. y Duarte A. 2012. Persistence of uropathogenic *Escherichia coli* strains in the host for long periods of time: relationship between phylogenetic groups and virulence factors. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 31:1211–1217
91. Naveen R. and Mathai E. 2005. Some virulence characteristics of uropathogenic *Escherichia coli* in different patient groups. Indian J Med Res. 122: 143-147.
92. Navidinia M., Peerayeh S., Fallah F., Bakhshi B. and Sajadinia. R. 2014. Phylogenetic grouping and pathotypic comparison of urine and fecal *Escherichia coli* isolates from children with urinary tract infection. Braz J Microbiol. 45(2): 509–514.
93. Nielsen, K. L., Dynesen, P., Larsen, P., & Frimodt-Moller, N. 2014. Faecal *Escherichia coli* from patients with E. coli urinary tract infection and healthy controls who have never had a urinary tract infection. *J Med Mic, 63*, 582-589.
94. Oelschlaeger TA1, Dobrindt U, Hacker J. 2002. Pathogenicity islands of uropathogenic E. coli and the evolution of virulence. Int J Antimicrob Agents. **19**(6):517-21.
95. Pallet A. and Hand K. 2010. Complicated urinary tract infections: practical solutions for the treatment of multiresistant Gram-negative bacteria. J. Antimicrob. Chemother. **65**(3): iii25-iii33.
96. Parham N., Pollard S., Desvaux M., Scott A., Liu C., Fivian A. and Henderson I. 2005. Distribution of the serine protease autotransporters of the *Enterobacteriaceae* among extraintestinal clinical Isolates of *Escherichia coli.* J. Clin. Microbiol. **43**(8): 4076-4082.
97. Pemberthy C., Gutiérrez J., Arango N., Monsalve M., Giraldo N., Gutiérrez F. y Amariles P. 2011. Aspectos clínicos y farmacoterapéuticos de la infección del tracto urinario. Revisión estructurada. Rev CES Med. **25**(2):135-152.
98. Picard B., Sevali J., Gouriou S., Duriez P., Brahimi N., Bingen., Eliom J. and Denamur E. 1999. The Link between Phylogeny and Virulence in *Escherichia coli* Extraintestinal Infection. Inf. Imm. p. 546–553.
99. Pigrau C. 2013. Infecciones del Tracto Urinario Nosocomiales. Enferm Infecc Microbiol Clín. **31**(9): 614-624.

100. Prevención, diagnóstico y t Prevención, diagnóstico y tratamiento de la infección de vías urinarias no co ón de vías urinarias no complicada en mplicada en menores de 18 años en el primero y segundo nivel de atención, México: Secretaría de Salud; 2008.
101. Rendón M. Reyes A. Rosas J. Rofríguez. 2012. Infecciones de vías urinarias. Patrón de resistencia in vitro de E. coli y E. coli ESBL a quinolonas, trimetoprima-sulfametoxazol y nitrofurantoina. Med Int Mex: 8(5):434-439.
102. Reyes-Gómez U., Reyes-Hernández U., Reyes-Hernández P., López-Cruz G., Castell-Roldán E., Reyes-Hernández K., Cruz-García L. y Vásquez-León I. 2012. Sensibilidad Antimicrobiana de E. coli en Niños con Infección de Vías Urinarias en una Clínica Privada. Primer Período 2010. Bol Clin Hosp Infant Edo Son: 29(1): 24-28.
103. Reyna-Flores F., Barrios H., Garza-Ramos U., Sánchez-Pérez A., Rojas-Moreno T., Uribe-Salas FJ., Fagundo-Sierra R. and Silvia-Sánchez J. 2013. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* O25b-ST131 isolates causing community-acquired UTIs in Mexico. Diagn Microbiol Infect Dis. **76**(3): 396-398.
104. Rippere K, O'Brien A, Conran R, Lockman H. 2001. Mutation of the gene encoding cytotoxic necrotizing factor type 1 (cnf 1) attenuates the virulence of uropathogenic *Escherichia coli*. Infect. Immn. 69 (6): 3954-3964.
105. Ruiz J., Simon K., Horcajada J., Velasco M., Barranco M., Roig G., Moreno A., Martínez J., Jiménez T., Mensa J. and Vila J. 2002. Differences in Virulence Factors among Clinical Isolates of Escherichia coli Causing Cystitis and Pyelonephritis in Women and Prostatitis in Men. J. Clin. Microbiol. **40**(12): 4445-4449.
106. Salas P., Barrera P., González C., Zambrano P., Salgado I., Quiroz L., Lillo A., Hevia P. 2012. Actualización en el diagnóstico y manejo de la Infección Urinaria en pediatría. Rev Chil Pediatr; 83(3): 269-278.
107. Salud, S. s. 2009. Guía de Práctica clínica, Diagnóstico y tratamiento de la infección aguda, no complicada del tracto urinario de la mujer. Secretaría de Salud
108. Sarkar S., Ulett G., Totsika M., Phan M., Schembri M. 2014. Role of capsule and O antigen in the virulence of uropathogenic *Escherichia coli*. PLoS One. **10;9**(4).
109. Schappert, S.M.; Rechtsteiner, E.A. 2011. Ambulatory medical care utilization estimates for 2007. Vital Health Stat. 13: 1–38.
110. Slavchev G., Pisavera E., Markova N. 2008. Virulence of uropathogenic *Escherichia coli.* Journal of culture collections. **6:** 3-9.
111. Smith Y., Rasmussen S., Grande K., Conran R. and O'Brien. 2008. Hemolysin of uropathogenic *Escherichia coli* evokes extensive shedding of the uroepithelium and hemorrhage in bladder tissue within the first 24 hours after infraurethral inoculation in mice. Infect Immun. **76** (7): 2978–2990.
112. Snyder J., Haugen B., Lockatell C., Maroncle N., Hagan E., Johnson D., Welch R. & Mobley H. 2005. Coordinate Expression of Fimbriae in Uropathogenic *Escherichia coli.* Infect Immun. **73**(11): 7588-7596.
113. Soto S., Smithson A., Martinez J., Horcajada J., Mensa J. y Vila J. 2007. Biofilm Formation in Uropathogenic *Escherichia coli* Strains: Relationship with Prostatitis, Urovirulence Factors and Antimicrobial Resistance. J Urol. **177**(1):365-8.
114. SUIVE/DGE/Secretaría de Salud/Estados Unidos Mexicanos 2013
115. Tabasi M., Karam M., Habibi M., Yekaninejad M. and BouzariS. 2015. Phenotypic Assays to Determine Virulence Factors of Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) Isolates and their Correlation with Antibiotic Resistance Pattern. Osong Public Health Res Perspect: 1-8.
116. Tarr P., Bilge S., Vary J. Jr, Jelacic S., Habeeb R., Ward T., Baylor M. and Besser T. Iha: a novel *Escherichia coli* O157:H7 adherence-conferring molecule encoded on a recently acquired chromosomal island of conserved structure. Infect. Immun. 2000; **68**(3): 1400–1407.
117. Tiba M., Yano T. and Leite D. 2008. Genotypic characterization of virulence factors in *Escherichia coli* strains from patients with cistitis. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo **50**(5):255-260.
118. Totsika M., Moriel D., Idris A., Rogers B., Wurpel D., Phan M., Paterson D. and Schembri M. 2012. Uropathogenic *Escherichia coli* mediated urinary tract infections. Curr Drug Targets. **13**(11): 1386-99.

119. Toval F, Schiller R, Meisen I, Putze J, Kouzel I, Zhang W, Karch H, Bielaszewska M, Mormann M, Müthing J, Dobrindt U.2014. Characterization of urinary tract infection-associated Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. Infect Immun. 82(11):4631-42.
120. Tracy MA. 2009. Pediatric genitourinary emergencies in the emergency department. J Emerg Nurs. 35:479-80.
121. Ulett G., Totsika M., Schaale K., Carey A., Sweet M. & Schembri M. 2013. Uropathogenic *Escherichia coli* virulence and innate immune responses during urinary tract infection. Curr Opn Microbiol. **16**: 100-107.
122. Vallejos C., López M.R., Enríquez M.Á. y Ramírez B., 2010. Prevalencia de infecciones de vías urinarias en embarazadas atendidas en el Hospital Universitario de Puebla. ENF INF MICROBIOL: 30 (4): 118-122.
123. Velasco M., Horcajada J., Mensa J., Moreno A., Vila J., Martinez J., Ruiz J., Barranco M., Roig G. and Soriano E. 2001. Decreased invasive capacity of quinolone-resistant *Escherichia coli* in patients with urinary tract infections. Clin Infect Dis. **15;33**(10):1682-6.
124. Vinué, L., Sáenz, Y., Somalo, S., Escudero, E., Moreno, M. Á., Ruiz-Larrea, F., & Torres, C. 2008. Prevalence and diversity of integrons and associated resistance genes in faecal Escherichia coli isolates of healthy humans in Spain. *J Antmicrob Chem, 62*, 934-937.
125. Von Baum H. y Marre R. 2005. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and therapeutic implications. Intern J Med Microbiol. **295:** 503–511.
126. Wagenlehner, F., Pilatz, A., Naber, K., & Weidner, W. (2008). Therapeutic challenges of urosepsis. *Eur J Cln Inv, 38*, 45-49.
127. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. 2014. Antimicrobial resistance: global report on surveillance.
128. Wiles T., Kulesus R. And Mulvey M. 2008. Origins and Virulence Mechanisms of Uropathogenic *Escherichia coli*. *Exp Mol Pathol*. **85**(1): 11–19.
129. Yamamoto, S., Tsukamoto, T., Terai, A., Kurazono, H., Takeda, Y., & Yoshida, O. 1997. Genetic Evidence Supporting the Fecal-Perineal-Urethral Hypothesis in Cystitis Caused by *Escherichia coli*. *J Ur, 157*(3), 1127-1129.