



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA DE PUEBLA**



**INSTITUTO DE CIENCIAS
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS MICROBIOLÓGICAS
POSGRADO EN MICROBIOLOGÍA**

**“PROPIEDADES HÍBRIDAS, DE VIRULENCIA Y DE RESISTENCIA DE
E. coli AISLADAS DE VARONES CON ITU”**

TESIS

**TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS (MICROBIOLOGÍA)
CON OPCIÓN EN MICROBIOLOGÍA MÉDICA**

PRESENTA:

**I. A. OSCAR HERNÁNDEZ CASTILLO.
Matrícula: 220470511.**

ASESOR DE TESIS:

D. C. MARGARITA MARÍA DE LA PAZ ARENAS HERNÁNDEZ.

PUEBLA, PUE.

ENERO 2023



BUAP

Puebla, Pue. a 17 de enero 2023.

**A LA ACADEMIA DEL POSGRADO
EN MICROBIOLOGÍA
CICM-ICUAP
PRESENTE.**

Por este conducto los abajo firmantes, integrantes del Comité revisor de Tesis de Maestría del alumno **Oscar Hernández Castillo**, les informamos que hemos revisado el escrito titulado:


“Propiedades híbridas, de virulencia y de resistencia de *E. coli* aisladas a varones con ITU”

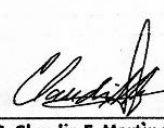
A nuestro juicio, el alumno **Oscar Hernández Castillo** puede proceder a la digitalización de la tesis y a la presentación del examen de grado correspondiente.


Sin más que agregar, nos despedimos afectuosamente de ustedes.

Atentamente.
“Pensar Bien Para Vivir Mejor”


D.C. Beatriz Eugenia Baca


D.C. Rosa del Carmen Rocha Gracia


D.C. Claudia F. Martínez de la Peña


D.C. Lucía Soto Urzúa

Posgrado en Ciencias Microbiológicas
Instituto de Ciencias (ICUAP)

Edificio IC11,
Ciudad Universitaria
Col. San Manuel, Puebla, Pue. C.P. 72570
01 (222) 229 55 00 Ext. 2522
posgrado.microbiologia@correo.buap.mx



“**DAR DE TI SIEMPRE**
LO **MEJOR**”

Ketzalkoatl

AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

- Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)** por la beca otorgada durante el desarrollo de este proyecto, con número de becario 601705.
- Al **Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas del Instituto de Ciencias (CICM)**, Posgrado en Microbiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por las facilidades prestadas durante el desarrollo de esta Tesis.
- Al **Laboratorio de Biología Molecular de Enteropatógenos (LBME)** del Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas por permitirme formar parte en su equipo de trabajo, facilitarme los recursos necesarios y desarrollarme como profesionalista.
- Al **Laboratorio de Enfermedades Nosocomiales y de la Comunidad** del CICM, ICUAP por la donación de las cepas y los oligonucleótidos utilizados para algunas PCRs.
- Al **Hospital Regional I.S.S.S.T.E. Puebla** y a la Dra. Guadalupe Jiménez Flores por facilitar las cepas para llevar a cabo este trabajo de investigación.

AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

- A la **D. C. Margarita María de la Paz Arenas Hernández**, por su dirección y revisión tanto crítica como estricta en este proyecto de investigación. Gracias por su dedicación, paciencia, motivación y sobre todo su tan valiosa confianza. Le agradezco haberme integrado a su encantador, elocuente y multidisciplinario grupo de trabajo.
- A la **D. C. Beatriz Eugenia Baca**, por sus conocimientos otorgados en la materia de genética microbiana, así como sus observaciones, preguntas y consejos para el desarrollo de este proyecto.
- A la **D. C. Claudia Martínez de la Peña**, por sus aportaciones y recomendaciones tanto experimentales como bioinformáticos.
- A la **D. C. Rosa del Carmen Rocha Gracia**, por el apoyo de infraestructura y recursos para el desarrollo de esta investigación. Gracias por haberme tranquilizado en la presentación de mi protocolo cuando estaba totalmente aterrado, jamás lo olvidaré.
- A la **D. C. Lucia Soto Urzúa**, por haber aceptado con gusto ser parte de mi comité revisor. Infinitas gracias por sus magníficos consejos, durante la materia de Fisiología microbiana, que tuvieron siempre un gran impacto en mí... "Muchachos, lean, lean mucho (!)"

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Esta tesis está dedicada especialmente en memoria a mi **mamá Bety**[†] que luchó hasta el último momento y a quien con gusto honraré para siempre.

- A mis padres: **Beatriz** y **Jaime**, por todo su amor genuino e incondicional y haberme apoyado y acompañado en este, mi sueño.
- A mis hermanas: **Raquel** y **Edith**, por sus visitas agradables, haberme brindado su apoyo y creer en mí.
- A mi amiga "Ant" **Angélica Neria Hernández**, por sus consejos personales y profesionales. Gracias por acompañarme, escucharme, guiarme y haber compartido tus conocimientos estadísticos, eres invaluable amiga mía...
- A la "comadreja" **Luis Adrián Cruz Alavez**[†], por enseñarme a ser un ingeniero y demostrarme que, a pesar de las adversidades nunca perder el ánimo ¡Comadreja lo logré!
- A la **D. C. Violeta Múgica Álvarez**, por darme la oportunidad de trabajar en su proyecto de Aerobiología, publicar nuestros resultados y claro, confiar en mí.
- A la **D. C. María Teresa Castañeda Briones**, que despertó en mí la pasión por la Microbiología y todo lo relacionado a ella.
- A la generación de Médica COVID 2020-2022: **Jimitrunks', Kalepo', mana Monse y Angela** que me ayudaron y compartieron su conocimiento de una manera desinteresada, gracias por todas las experiencias tan divertidas que nos dimos en línea y en presencial, sin ustedes este Posgrado hubiera sido un sin sabores.
- Con suma estima a mi cómplice de laboratorio **Mons'** que logramos una magnífica conexión, infinitas gracias por enseñarme las técnicas del laboratorio, soy la prueba viviente de tu buen desarrollo y desempeño en él, jamás lo olvidaré y mucho menos algunas de tus frases célebres: *¡Ay sí, qué horror!... Ya, a la ... Su ...*
- Al **D. C. Samy Fuentes Quiroz**, que me sonsacó del LBME para mostrarme lo hermosa que es la ciudad de Puebla y la impecable gastronomía que en ella hay. Gracias por escucharme, conocerme y no juzgarme, qué gran amigo eres...
- A "Leds" **Leticia Romero Mantilla**, por creer en el proyecto, no pudo haber nadie mejor que tú para continuar con esta investigación, me sentiré tranquilo. Gracias por tu dedicación, entusiasmo y compromiso.
- A la "Brous" **Angélica Barrientos Mejorada**, por crecer, sufrir, apoyarnos en los seminarios y alegrarnos juntos cuando nos salían los experimentos, tu loquera y elocuencia te hacen única ¡Jamás las pierdas!

- A Nan' **Naín Gabriela Pedrozo Viveros**, que siempre fuiste uno de mis ejemplos a seguir por tu gran conocimiento, gracias también por haberme dedicado tiempo para ayudarme cuando no sabía ni pío je, je, je ¡Eres fregona Nan'!
- A **Daniel Huelgas Méndez**, que a pesar de no haber convivido contigo, fuiste un gran ejemplo para superarme en la maestría y al final, creo que ¡Lo logré! Además, por ser el pionero en este cepario de varones.
- A los chicos de LBME **Robertina, Akie** y **Liz**, por el *gran* compañerismo y los buenos momentos vividos en el laboratorio, *claro que sí*.
- A **Luis Fernando Báez Reyes** quien me acompañó y apoyó en este viaje con los nuevos genes de virulencia. Gracias por ser tan entusiasta, dedicado, apasionado y sobre todo con un alto nivel de compromiso, espero en algún futuro poder colaborar contigo.
- A los chicos de prácticas profesionales y servicio social: **Aislin Carmona Hernández** y **Luz Adriana Vázquez Soriano**, por apoyarme en la parte experimental y bioinformática, contribuyendo así en este proyecto.
- A **Shaks** gracias por acompañarme siempre, has sido una fuente de inspiración y resiliencia desde que te descubrí, sin tu música al igual que toda mi gente esto llamado vida, hubiera sido un sin sabores... *Suerte que en el sur hayas nacido, lero lorebray*.
- Al **I. A. Oscar Hernández Castillo** (o sea yo je, je, je), gracias por haber dado lo mejor de ti, por tu dedicación, esfuerzo, pasión y haber creído en ti... Allez-y!
- A **Escherichia coli Uropatógena (UPEC)**, que a pesar de ser muy canija me apasioné por ti, tanto que ahora esta tesis habla solo de ti y si alguna vez te soy infiel ¡Perdóname, regresaré a ti! Je, je, je...

CONGRESOS

Participación en el XXVI Simposio del Departamento de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, UAM-I, en exposición oral, llevado a cabo del 06 al 10 de diciembre del 2021.



LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Y EL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA SALUD

Otorgan la presente

Constancia

a: Oscar Hernández Castillo, Margarita María de la Paz Arenas Hernández, Beatriz Eugenia Baca, Rosa del Carmen Rocha Gracia, Claudia Fabiola Martínez de la Peña.

Por la presentación del trabajo:

**Análisis in silico y búsqueda de genes reportados como estrechamente asociados a
Escherichia coli uropatógena en el genoma de expec**

En el XXVI Simposio del Departamento de Ciencias de la Salud

Celebrado los días 6 al 10 de Diciembre del 2021

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'J.L.G.O.'.

Dr. José Luis Gómez Olivares
Jefe del Departamento de Ciencias de la Salud

Comité Organizador: Dra. Elsa Cervantes Ríos, Dra. Norma Edith López Díaz-Guerrero, Dra. Adriana Alarcón Aguilar, Dra. Ofelia Limón Morales, Dr. Bárbara Vargas Miranda, Dra. Miriam Fahiel Casillas Avalos, Dr. Noé Salinas Arreortua

Participación en el XXII Reunión Internacional de Ciencias Médicas de la Universidad de Guanajuato, Campus León, en la modalidad cartel del 24 al 26 de agosto del 2022.



UNIVERSIDAD DE
GUANAJUATO

Departamento de Ciencias Médicas, División de Ciencias de la Salud
Universidad de Guanajuato, Campus León

XXII Reunión Internacional de Ciencias Médicas

24-26 Agosto 2022

OTORGA LA PRESENTE
CONSTANCIA

A:

OSCAR HERNANDEZ CASTILLO

POR SU PARTICIPACIÓN CON EL TRABAJO LIBRE:
**PROBABLES GENES ESPECÍFICOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE
ESCHERICHIA COLI UROPATÓGENA EN EL GENOMA DE E. COLI**

EN COAUTORÍA CON:

**MARGARITA MARIA DE LA PAZ ARENAS HERNÁNDEZ . BEATRIZ EUGENIA
BACA . CLAUDIA MARTÍNEZ DE LA PEÑA . ROSA DEL CARMEN ROCHA
GRACIAS .**

24, 25 y 26 de Agosto del 2022 en León, Gto.

"LA VERDAD OS HARÁ LIBRES"

Dr. Tonatiuh García Campos
Director de División de
Ciencias de la Salud

Dra. Claudia Lúevano Contreras
Directora del Departamento de
Ciencias Médicas

Dra. Lorena del Rocio Ibarra Reynoso
Coordinadora de la Maestría
en Ciencias Médicas

Dra. María Lúisa Lazo de la Vega Monroy
Coordinadora del Doctorado
en Ciencias Médicas

ACTIVIDADES EXTRA CURRICULARES

Curso en R para principiantes, del 04 al 25 de septiembre del 2021, con una duración de 4h en cada sesión.



Otorga la presente constancia a:

Oscar Hernandez Castillo

por haber concluido exitosamente el curso

DATA SCIENCE 01: R PARA PRINCIPIANTES

Impartido en **16 Horas** durante **Septiembre 2021**, incluyendo los temas:
RStudio, manejo de datos y gráficos en R

MC. Israel Aguilar Ordoñez
Departamento de enseñanza continua Biofreelancer

Constancias de participación en las actividades de la Dirección General de Bibliotecas a través de su jefatura de Alfabetización Digital de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, BUAP.

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA



Dirección General
de Bibliotecas
BUAP

La Dirección General de Bibliotecas a través de su Jefatura de Alfabetización Digital
OTORGAN LA PRESENTE CONSTANCIA DE ASISTENCIA A:

Oscar Hernández Castillo

PARTICIPANDO DESTACADAMENTE EN EL WEBINAR
HABILIDADES EN EL USO DE
 **MENDELEY**

Que se llevó a cabo el día 29 de enero de 2021, a través de una
sesión virtual en la Plataforma Cisco Webex Meetings con una
duración de 120 minutos.

"PENSAR BIEN, PARA VIVIR MEJOR"
H. Puebla de Zaragoza, a 29 de enero de 2021



JOSÉ ALFONSO HERNÁNDEZ VALENCIA
Jefe de Alfabetización Digital

BUAP

FOLIO: W80883



La Dirección General de Bibliotecas a través de su Jefatura de Alfabetización Digital
OTORGAN LA PRESENTE CONSTANCIA DE ASISTENCIA A:


OSCAR HERNÁNDEZ CASTILLO

PARTICIPANDO DESTACADAMENTE EN EL WEBINAR



Que se llevó a cabo el día 12 de febrero de 2021, a través de una
sesión virtual en la Plataforma Cisco Webex Meetings con una
duración de 120 minutos.

"PENSAR BIEN, PARA VIVIR MEJOR"
H. Puebla de Zaragoza, a 12 de febrero de 2021



JOSÉ ALFONSO HERNÁNDEZ VALENCIA
Jefe de Alfabetización Digital

BUAP



La Dirección General de Bibliotecas a través de su Jefatura de Alfabetización Digital
OTORGAN LA PRESENTE CONSTANCIA DE ASISTENCIA A:


OSCAR HERNÁNDEZ CASTILLO

PARTICIPANDO DESTACADAMENTE EN EL WEBINAR

**UNA CHARLA SOBRE
PENSAMIENTO CRÍTICO**

Que se llevó a cabo el día 17 de febrero de 2021, a través de una
sesión virtual en la Plataforma Cisco Webex Meetings con una
duración de 90 minutos.

"PENSAR BIEN, PARA VIVIR MEJOR"
H. Puebla de Zaragoza, a 17 de febrero de 2021



JOSÉ ALFONSO HERNÁNDEZ VALENCIA
Jefe de Alfabetización Digital

BUAP



La Dirección General de Bibliotecas a través de su Jefatura de Alfabetización Digital
OTORGAN LA PRESENTE CONSTANCIA DE ASISTENCIA A:

OSCAR HERNÁNDEZ CASTILLO


PARTICIPANDO DESTACADAMENTE EN EL WEBINAR



CONOCE EL REPORTE DE SIMILITUD Y EVITA EL PLAGIO

Que se llevó a cabo el día 24 de febrero de 2021 con una duración de 110 minutos
dentro del programa de Sesiones Virtuales para desarrollar habilidades en el uso de
Sistemas de Información en Línea | Período Primavera 2021

"PENSAR BIEN, PARA VIVIR MEJOR"
H. Puebla de Zaragoza, a 24 de febrero de 2021



JOSÉ ALFONSO HERNÁNDEZ VALENCIA
Jefe de Alfabetización Digital

BUAP

Constancia de participación virtual en la materia de Ecotoxicología de la Licenciatura en Biotecnología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, BUAP.

**Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Facultad de Ciencias Biológicas**

Otorga la presente

Constancia

**A: Ing. Amb. Oscar Hernández
Castillo**

Por su participación virtual del día **04 de septiembre de 2020**, como invitado en la materia de ecotoxicología de la Licenciatura en Biotecnología, con la ponencia denominada: "Contaminantes atmosféricos", con duración de **01 hora**.

Atestadamente

Dr. Salvador Galicia Isasmendi

Director

"Pensar Bien, Para Vivir Mejor"

H. Puebla de Z., a 21 de septiembre de 2020





Of. No. FCBDIR/137/2022

Asunto: Constancia de participación

**I.A. Oscar Hernández Castillo
P r e s e n t e**

Quien suscribe, Dr. Salvador Galicia Isasmendi, Director de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, otorga la presente **constancia** por su valiosa participación con la impartición del tema: "Contaminantes del aire", realizada el día 23 de agosto de 2021, como parte de las actividades del plan de trabajo de la asignatura de ECOTOXICOLOGIA.

Sin más por el momento, se extiende la presente constancia en la Heroica Puebla de Zaragoza a los veintiséis días del mes de enero del dos mil veintidós.

ATENTAMENTE
"Pensar Bien, Para Vivir Mejor"

D. en C. Salvador Galicia Isasmendi
Director de la Facultad de Ciencias Biológicas
Of. No. FCBDIR/137/2022
Asunto: Constancia de participación
I.A. Oscar Hernández Castillo

C.c.p.archivo

Facultad de
Ciencias Biológicas

Edif. 1 BIO 1, Ciudad Universitaria,
Puebla, Pue. C.P. 72570
01 (222) 229 55 00
Ext. 7097, 7085, 7084 y 7086

ÍNDICE GENERAL

| | |
|--|-----|
| ÍNDICE DE TABLAS..... | I |
| ÍNDICE DE FIGURAS..... | II |
| ÍNDICE DE ANEXOS..... | III |
| ABREVIATURAS..... | IV |
| RESUMEN | |
| | 1 |
| 1 INTRODUCCIÓN..... | 2 |
| 1.1 Generalidades de <i>Escherichia coli</i> | 2 |
| 1.2 <i>E. coli</i> comensal y patógena | 2 |
| 1.2.1 <i>E. coli</i> comensal (CoEC)..... | 3 |
| 1.2.2 <i>E. coli</i> diarreogénica (DEC) | 4 |
| 1.2.3 <i>E. coli</i> patógena extraintestinal (ExPEC) | 5 |
| 1.3 <i>E. coli</i> uropatógena (UPEC) como modelo de estudio | 7 |
| 1.3.1 Factores de virulencia (FV) | 7 |
| 1.3.2 Elementos genéticos móviles (MGE)..... | 12 |
| 1.3.3 Infecciones del tracto urinario (ITU) | 16 |
| 1.3.4 Tratamiento de ITU y resistencia antibiótica..... | 20 |
| 2 ANTECEDENTES..... | 27 |
| 2.1 Antecedentes generales..... | 27 |
| 2.1.1 Antecedentes internacionales..... | 27 |
| 2.1.2 Antecedentes nacionales..... | 29 |
| 2.2 Antecedentes directos | 30 |
| 3 JUSTIFICACIÓN | 32 |
| 4 OBJETIVO GENERAL..... | 33 |
| 5 OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 33 |
| 6 DIAGRAMA DE TRABAJO | 34 |
| 7 MATERIALES Y MÉTODOS | 35 |
| 7.1 Cepas UPEC..... | 35 |
| 7.2 Material biológico | 35 |
| 7.3 Extracción de ADN bacteriano..... | 37 |
| 7.3.1 Extracción de ADN genómico por lisis alcalina..... | 37 |

| | | |
|-------|---|----|
| 7.3.2 | Extracción de ADN total por el método de caldo hervido | 37 |
| 7.4 | Determinación de genes de virulencia | 37 |
| 7.5 | Determinación de genes de resistencia | 38 |
| 7.6 | Determinación de cepas híbridas | 40 |
| 7.7 | Estadística | 40 |
| 7.8 | Sección de análisis bioinformático..... | 41 |
| 7.8.1 | Análisis <i>in silico</i> | 41 |
| 7.8.2 | Búsqueda de genomas CoEC, DEC y ExPEC | 41 |
| 7.8.3 | Genómica comparativa genomas de <i>E. coli</i> | 41 |
| 7.8.4 | Esquema de identificación de cepas UPEC | 42 |
| 7.8.5 | Herramientas bioinformáticas | 42 |
| 8 | RESULTADOS | 43 |
| 8.1 | Sección de análisis experimental | 43 |
| 8.1.1 | Descripción poblacional..... | 43 |
| 8.1.2 | Genes clásicos y nuevos de virulencia | 43 |
| 8.1.3 | Perfil de resistencia | 48 |
| 8.1.4 | Cepas híbridas (UPEC/DEC) | 51 |
| 8.2 | Sección de análisis bioinformático..... | 52 |
| 8.2.1 | Búsqueda de genomas CoEC, DEC y ExPEC y determinación de grupo filogenético 52 | |
| 8.2.2 | Determinación de genes específicos en genomas de <i>E. coli</i> | 54 |
| 8.2.3 | Genómica comparativa <i>in silico</i> | 55 |
| 8.2.4 | Esquema de identificación de cepas UPEC | 57 |
| 9 | DISCUSIÓN | 61 |
| 10 | CONCLUSIONES..... | 71 |
| 11 | PERSPECTIVAS | 72 |
| 12 | ANEXOS | 73 |
| 13 | BIBLIOGRAFÍA..... | 91 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Clasificación de los patotipos de <i>E. coli</i> | 3 |
| Tabla 2. Factores de virulencia asociados a patotipos DEC..... | 4 |
| Tabla 3. Esquema propuesto por Jhonson y cols, 2015. | 6 |
| Tabla 4. Esquema de Spurbeck y cols, 2012. | 6 |
| Tabla 5. Genes propuestos por Brons y cols, 2020 para la identificación de UPEC..... | 7 |
| Tabla 6. Las adhesinas fimbriales y afimbriales de la UPEC y sus características en el organismo humano..... | 10 |
| Tabla 7. Islas genómicas identificadas en la cepa prototipo CFT073..... | 14 |
| Tabla 8. Genes de resistencia reportados en cepas UPEC..... | 21 |
| Tabla 9. Mecanismo de resistencia a tetraciclina..... | 25 |
| Tabla 10. Características generales del cepario de estudio (Huelgas-Méndez, 2020). | 35 |
| Tabla 11. Cepas control..... | 36 |
| Tabla 12. Genes identificados por PCR individual para los FV..... | 38 |
| Tabla 13. Genes de resistencia caracterizados por PCR individual..... | 39 |
| Tabla 14. Genes DEC utilizados para la identificación de cepas híbridas..... | 40 |
| Tabla 15. Distribución de los nuevos genes de virulencia e identificación de cepas UPEC. | 45 |
| Tabla 16. Asociación entre los genes de virulencia y resistencia en cepas UPEC..... | 47 |
| Tabla 17. Análisis RLB entre factores de virulencia y el gen de resistencia antimicrobiano..... | 47 |
| Tabla 18. Asociación entre genotipo y fenotipo de resistencia y agentes antimicrobianos en el cepario..... | 50 |
| Tabla 19. Asociación estadística de acuerdo con la prueba chi-cuadra o exacta de Fisher del gen <i>stx1</i> entre factores de virulencia, filogrupos, PAIs y agentes antimicrobianos..... | 52 |
| Tabla 20. Genomas utilizados como controles, para el esquema de identificación de cepas UPEC. | 58 |
| Tabla 21. Recopilación de estudios asociados a UPEC tanto en Europa como Latino América en el periodo 2017- 2022..... | 60 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Características y algunos factores de virulencia propios de una categoría o compartidos | 5 |
| Figura 2. Factores clásicos de virulencia asociados a UPEC..... | 9 |
| Figura 3. Organización genética de la cápsula del grupo 2 | 12 |
| Figura 4. Gráfico histórico de ITU en México, 2003-2021 | 17 |
| Figura 5. A) Gráfico histórico de ITU reportadas en Puebla, 2003-2021. B) ITU en varones por grupo de edad en el Estado de Puebla, 2015-2016/2019-2020. | 18 |
| Figura 6. Resistencia de antibióticos de UPEC en el tratamiento de las ITU..... | 21 |
| Figura 7. Esquema de trabajo..... | 34 |
| Figura 8. Distribución de la población de estudio de acuerdo al grupo de edad..... | 43 |
| Figura 9. Determinación de genes clásicos y nuevos de virulencia..... | 44 |
| Figura 10. Genes clásicos y nuevos de virulencia presentes en el cepario de varones con ITU... | 45 |
| Figura 11. Heatmap generado según la asociación estadística entre los genes nuevo y clásicos de virulencia. | 46 |
| Figura 12. Genes clásicos y nuevos de virulencia presentes en el cepario de varones con ITU ... | 46 |
| Figura 13. Determinación de 13 genes de resistencia en las cepas UPEC aislados de varones ... | 48 |
| Figura 14. Resistencia antimicrobiana por familia de antibiótico en aislados de <i>E. coli</i> de varones con ITU | 49 |
| Figura 15. Dendograma de las relaciones filogenéticas, los genotipos y fenotipos y el perfil de resistencia antimicrobiana que exhibió el cepario de varones..... | 50 |
| Figura 16. Presencia de cepas híbridas en cepario de varones..... | 51 |
| Figura 17. Determinación del gen <i>stx1</i> de STEC..... | 51 |
| Figura 18. Genomas completos de CoEC, DEC y ExPEC, y sus categorías | 53 |
| Figura 19. Genomas completos de CoEC, DEC y ExPEC, y sus subgrupos..... | 53 |
| Figura 20. Prevalencia de filogrupos determinados en los 600 genomas de <i>E. coli</i> | 54 |
| Figura 21. Prevalencia de los genes <i>c3509</i> , <i>c3686</i> y <i>chuA</i> en los 600 genomas de <i>E. coli</i> | 55 |
| Figura 22. Diagrama de Venn comparando los genes de 5 genomas de <i>E. coli</i> CFT073 | 56 |
| Figura 23. Diagrama de Venn comparando los genes de 6 genomas ExPEC..... | 56 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | |
|--|----|
| ANEXO 1. Distribución de los genes de virulencia clásicos y nuevos en el cepario de varones .. | 73 |
| ANEXO 2. Ochenta y tres posibles genes para identificar a UPEC..... | 74 |
| ANEXO 3. Catorce posibles genes para identificar a UPEC..... | 76 |
| ANEXO 4. Continuación de la Tabla 20. Genomas UPEC..... | 77 |
| ANEXO 5. Relación entre los filogrupos y los 94 posibles nuevos genes para la identificación de cepas UPEC..... | 81 |
| ANEXO 6. Distribución de los 54 genomas UPEC, obtenidos de la base de datos de NCBI..... | 83 |
| ANEXO 7. Relación entre los grupos filogenéticos y los 144 posibles nuevos genes para la identificación de cepas UPEC, obtenidos de la base de datos de eggNOG..... | 84 |
| ANEXO 8. Distribución de los 79 genomas UPEC..... | 87 |
| ANEXO 9. Heatmap generado según la asociación estadística entre los genes de virulencia en el cepario de varones..... | 88 |
| ANEXO 10. Recopilación de estudios de cepas UPEC tanto en Latino América como en Europa de factores de virulencia..... | 89 |

ABREVIATURAS

| | |
|---|---|
| ABU: Bacteriuria asintomática | IBC: Comunidades bacterianas intracelulares |
| ADN: Ácido Desoxirribonucleico | IC 95%: Intervalo de confianza, 95% |
| AIEC: <i>Escherichia coli</i> adherente invasiva | IS: Secuencias de inserción |
| AMC: Amoxicilina/ácido clavulánico | ITU: Infección del tracto urinario |
| AME: Enzimas modificadoras de aminoglucósidos | kb: Kilobases |
| AMK: Amikacina | LBME: Laboratorio de Biología Molecular de Enteropatógenos |
| AMP: Ampicilina | LMHyC: Laboratorio de Microbiología Hospitalaria y de la Comunidad |
| AN: Ácido nalidixico | LVX: Levofloxacina |
| APEC: <i>Escherichia coli patógena aviar</i> | MDR: Multidrogo resistente |
| ARNt: Ácido ribonucleico de transferencia | MGE: Elementos genéticos móviles |
| ATB: Antibiótico | MLST: Tipificación de secuencias multilocus |
| ATM: Aztreonam | NCBI: National Center Biotechnology Information |
| CEP: Cefepime | NET: Netilmicina |
| CF: Cefalotina | NIT: Nitrofuratoína |
| CFU: Cefuroxima | NMEC: <i>Escherichia coli</i> asociada a meningitis neonata |
| CFX: Ceftriaxona | NOR: Norfloxacina |
| CFZ: Ceftazidima | OFX: Ofloxacina |
| CIP: Ciprofloxacina | OR: Odds ratio |
| CL: Colistina | PAI: Isla de patogenicidad |
| CLO: Cloranfenicol | pb: Pares de bases |
| CoEC: <i>Escherichia coli</i> comensal | PBP: Proteína de unión a penicilina |
| CTX: Cefotaxima | PCR: Reacción en cadena de la polimerasa |
| DAEC: <i>Escherichia coli</i> Difuso adherente | QRDR: Región determinante de resistencia a quinolonas |
| DEC: <i>Escherichia coli</i> diarreogénica | RLB: Regresión logística binaria |
| E. coli: <i>Escherichia coli</i> | SEPEC: <i>Escherichia coli</i> septicémica |
| EAEC: <i>Escherichia coli</i> Enteroagregativa | stx1: Toxina Shiga-like |
| ECOR: <i>Escherichia coli</i> reference collection | TCY: Tetraciclina |
| EHEC: <i>Escherichia coli</i> Enterohemorrágica | TGH: Transferencia genética horizontal |
| EIEC: <i>Escherichia coli</i> Enteroinvasiva | Tn: Transposón |
| ENA: European Nucleotide Archive | Tnp: Transposasa |
| EPEC: <i>Escherichia coli</i> Enteropatógena | TXS: trimetoprim-sulfametoxazol |
| ETEC: <i>Escherichia coli</i> Enterotoxigénica | UFC/mL: Unidades formadoras de colonias por mililitro |
| ETP: Ertapenem | UPEC: <i>Escherichia coli</i> uropatógena |
| ExPEC: <i>Escherichia coli</i> extraintestinal | XDR: Extremadamente resistente |
| FOS: Fosfomicina | μl: Microlitro |
| FQ: Fluoroquinolonas | |
| FV: Factores de virulencia | |
| GI: Gastro intestinal | |
| GM: Gentamicina | |
| HBP: Hiperplasia prostática benigna | |

Resumen

Las cepas de *Escherichia coli* se pueden clasificar de acuerdo a su perfil patogénico en cepas comensales (CoEC) y cepas patógenas; cepas diarreogénicas (DEC) y cepas extraintestinales (ExPEC). Dentro de las ExPEC, el agente etiológico causante de las infecciones del tracto urinario (ITU) es *E. coli* uropatógeno (UPEC). Responsable, en su mayoría, de las infecciones adquiridas en la comunidad de entre un 80% y de forma nosocomial en un 50%. Después de las infecciones respiratorias, las ITU fueron la segunda causa de enfermedad en nuestro país para el año 2020. En el año 2021 el estado de Puebla reportó un total de 130,506 casos de ITU; 104,510 mujeres y 29,270 varones. Clásicamente las cepas UPEC poseen factores de virulencia (FV) con función de adhesión; pili tipo 1 y -P, fimbrias F9, daño tisular; factor necrotizante 1, α -hemolisina y toxinas autotransportadoras secretadas, sistemas de adquisición de hierro; aerobactina, enterobactina, salmoquelina y yersiniabactina, y mecanismos de evasión de la respuesta inmune como la cápsula o antígeno K; todos estos FV son necesarios para comenzar un proceso de infección en vías urinarias. Actualmente, no se cuenta con una identificación genética clara para definir a las cepas UPEC. Sin embargo, diversos autores se han esforzado por proponer un conjunto de FV para su identificación. Spurbeck y cols, 2012 proponen los genes *yfcV*, *chuA*, *fyuA* y *vat* para dicho propósito. Asimismo, Brons y cols, 2020 sugieren un total de 3 nuevos genes para la identificación rápida de UPEC: *c3509*, *c3686* y *chuA*.

El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de nuevos genes y clásicos de UPEC, genes de resistencia antimicrobiana y genes DEC en 24 aislados de varones con ITU en el estado de Puebla; además, de proponer un posible esquema de identificación para UPEC, estos genes fueron determinados por PCR y se incluyó un biomarcador molecular *uidA* (100%, 24/24) que identificó al cepario como perteneciente a la especie de *E. coli*. Los genes clásicos más prevalentes fueron *kpsMT K1* (92%), *fliC* (67%) y *usp* (63%). La presencia de estos genes sugiere que el cepario de varones está asociado a infecciones en vías altas. Los 3 nuevos genes de virulencia que reporta Brons: *c3509*, *c3686* y *chuA*, identificaron que el 79% (19/24) del cepario pertenecían a cepas UPEC. Además, estos mismos genes se encontraron en 600 genomas: 266 ExPEC, 172 DEC y 162 CoEC, por lo que no podrían ser considerados como específicos de UPEC. Sin embargo, la presencia de estos nuevos genes se asoció (Odds Ratio > 1) con el gen de resistencia *aac(6)-lb-cr*, implicando que su presencia aumenta la probabilidad de que la cepa presente resistencia a fluoroquinolonas. El total de las cepas fueron positivas a *sul1* y *aac(3)-II*, 23 (96%) para *sul3* y *nfsA*, 22 (92%) y 21 (88%) para *CTX-M1* y *dfrA1*, respectivamente, 18 (75%) para *aac(6)-lb-cr*, 17 (71%) a *nfsB*, 15 (63%) y 13 (54%) a *tet(A)* y *tet(B)*, respectivamente, 8 (33%) para *qnrA/B* y 1 (4%) a *catA1*. El 13% (3/24) del cepario portaron el gen *stx1*, clasificando a estas cepas como UPEC/STEC. El posible esquema de identificación de cepas UPEC sería: *hlyA*, *hlyC*, *cnf-1* asociados al daño tisular y *papG-III*, *sfaH* adhesión y *fyuA* captación de hierro. Este estudio contribuye a mejorar la comprensión de la patogénesis de las ITU en varones.

Palabras clave ExPEC. DEC. CoEC. UPEC. Virulencia. Resistencia.

Introducción

1.1 Generalidades de *Escherichia coli*

E. coli es una bacteria Gram-negativa que coloniza el tracto gastro-intestinal (GI) del ser humano y animales de sangre caliente, estableciendo una relación simbiótica con su hospedero. Taxonómicamente, pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* y, serológicamente, se puede diferenciar en función de tres antígenos de superficie: O (somático), H (flagelar) y K (capsular). Se han descrito al menos 167 antígenos (O), 53 antígenos (H) y 74 capsulares (K). Esta bacteria puede ser transmitida a través del consumo e ingesta de agua y alimentos contaminados como carne cruda o de poco tiempo de cocción y productos lácteos provocando enfermedad diarreica. Sin embargo, en el ámbito hospitalario y de la comunidad, *E. coli* es responsable de entre un 30 y 60% de las infecciones del tracto urinario, torrente sanguíneo o sepsis ([Ambite et al. 2021](#); [Breland et al. 2017](#); [Yamaji et al. 2018](#)).

1.2 *E. coli* comensal y patógena

Desde su descubrimiento por el médico Theodor Escherich en 1885, *E. coli* se ha convertido en una de las bacterias modelo para estudios analíticos y comparativos por su facilidad para ser cultivada y manipulada genéticamente dentro de los laboratorios de investigación. Al ser una especie tan diversa, las cepas de *E. coli* se pueden clasificar de acuerdo a su perfil génico en cepas comensales (CoEC) y cepas patógenas, dentro de las cuales se encuentran dos grandes grupos: cepas diarreogénicas (DEC) y cepas extraintestinales (ExPEC) ([Behzadi et al. 2017](#); [Breland et al. 2017](#); [Croxen & Finlay 2010](#); [Parvez et al. 2019](#); [Sora et al. 2021](#)).

E. coli se ha utilizado como especie modelo para analizar los procesos implicados en la evolución del genoma bacteriano. Hace más de 30 años, se formó un conjunto de cepas conocido como colección de referencia de *E. coli* (ECOR). La colección ECOR está formada por 72 cepas de referencia *E. coli*, obtenidas de diversos hospederos y regiones geográficas (1973-1983). Este cepario es pionero en los estudios de filogenia, con diversas técnicas moleculares, siendo la reacción en cadena de polimerasa (PCR), la más utilizada en la actualidad, a través de la cual se ha demostrado que las cepas de *E. coli* patógenas y comensales se clasifican en siete grupos

filogenéticos (A, B1, B2, C, D, E, F). En el estudio de Clermont y cols, 2019 agregan un octavo grupo, el filogrupo G, como intermedio entre los filogrupos F y B2. La mayoría de las cepas comensales pertenecen al filogrupo A y B1. Las cepas DEC normalmente se agrupan en los filogrupos A, B1, D y E, en tanto que las cepas clasificadas en los filogrupos B1, B2, E y D son generalmente más virulentos y altamente asociadas a cepas ExPEC (**Tabla 1**) (Asadi *et al.* 2019; Clermont *et al.* 2019; Desvaux *et al.* 2020; Geurtsen *et al.* 2022; Patel *et al.* 2018).

Tabla 1. Clasificación de los patotipos de *E. coli*, categorías, tipo de infección que produce y relación con el hospedero (Modificado Behzadi *et al.* 2017).

| Categoría | Patotipos | Tipo de infección | Apariencia | Filogrupo |
|-----------|--|---------------------------|-------------|-------------|
| ExPEC | <i>E. coli</i> asociada a meningitis neonatal (NMEC) | Meningitis en neonatos | Oportunista | D, E |
| | <i>E. coli</i> asociada a septicemia (SEPEC) | Sepsis | Oportunista | B1 |
| | <i>E. coli</i> uropatógena (UPEC) | Infección tracto urinario | Oportunista | B2, D |
| DEC | <i>E. coli</i> Entero-Agregativa (EAEC) | Diarrea (sanguinolenta) | Patógeno | A, B1, D, E |
| | <i>E. coli</i> Entero-Patógena (EPEC) | Diarrea (sanguinolenta) | Patógeno | |
| | <i>E. coli</i> Entero-Toxigénica (ETEC) | Diarrea (sanguinolenta) | Patógeno | B1, D, E |
| | <i>E. coli</i> Entero-Hemorrágica (EHEC) | Diarrea (sanguinolenta) | Patógeno | |
| | <i>E. coli</i> Entero-Invasiva (EIEC) | Diarrea (sanguinolenta) | Patógeno | |
| | <i>E. coli</i> Adherente-Invasiva (AIEC) | Diarrea (sanguinolenta) | Patógeno | B2 |
| | <i>E. coli</i> Difuso-Adherente (DAEC) | Diarrea (sanguinolenta) | Patógeno | A, B2, E |

1.2.1 *E. coli* comensal (CoEC)

E. coli al formar parte de la flora normal de animales de sangre caliente y seres humanos, es considerada una bacteria comensal abundante en el tracto GI que alberga la mayor colección de células bacterianas $\sim 10^{14}$. Datos recientes de análisis epidemiológicos y de secuenciación del genoma sugiere que no existe una línea clara entre *E. coli* comensal y patógena. Se sabe que las cepas de *E. coli* en promedio presentan un total de 5,000 genes, de los cuales el 40% (2,000 genes) son compartidos entre ellas, debido a su alta plasticidad genómica. Es decir, que una cepa comensal puede evolucionar a una cepa patógena si adquiere características patogénicas por el mecanismo de transferencia genética horizontal, y un patógeno puede volver a un estado comensal por pérdida de material genético. Esta característica le proporciona ventajas para que esta bacteria se instale en entornos cambiantes, dentro y fuera del intestino (Kaper *et al.* 2004; Munhoz *et al.* 2021; Rasko *et al.* 2008; Spaulding *et al.* 2018).

1.2.2 *E. coli* diarreogénica (DEC)

E. coli patógena intestinal o diarreogénica (DEC) es el agente etiológico responsable de la diarrea endémica y epidémica a nivel mundial. El patotipo DEC es clasificado de acuerdo al tipo de diarrea que produce, sus factores de virulencia (FV), mecanismos de infección, tropismo tisular y síntomas en 7 categorías: 1) *E. coli* Enteropatógena (EPEC), 2) *E. coli* Enterotoxigénica (ETEC), 3) *E. coli* Enterohemorrágica (EHEC), 4) *E. coli* Enteroinvasiva (EIEC), 5) *E. coli* Enteroagregativa (EAEC), 6) *E. coli* Difuso adherente (DAEC) y 7) *E. coli* Adherente invasiva (AIEC) (Croxen and Finlay 2010; Desvaux *et al.* 2020; Kaper *et al.* 2004).

A pesar de que estos patotipos DEC presentan FV específicos (**Tabla 2**) la plasticidad del genoma de *E. coli* complica la identificación de ciertos aislados. Esto debido a que algunos aislados combinan características de virulencia de diferentes categorías y patotipos, denominándose patógenos híbridos, potencialmente más virulentos. Tal es el caso del brote de *E. coli* O104:H4 que ocurrió en Europa central a finales de la primavera de 2011, causado por una cepa híbrida EAEC/STEC, infectando a casi 4,000 personas principalmente en Alemania y 3,785 casos reportados fuera del país. Identificándose a las semillas germinadas contaminadas como responsables del brote transmitido por alimentos (Karch *et al.* 2012; Luna-Guevara *et al.* 2019; Riley 2020).

Tabla 2. Factores de virulencia asociados a patotipos DEC (Tomado de Riley *et al.* 2020).

| Patotipos | Gen específico |
|--|---------------------------|
| <i>E. coli</i> Enteropatógena (EPEC) | <i>bfpA</i> , <i>eae</i> |
| Atípica EPEC | <i>eae</i> |
| <i>E. coli</i> Enterotoxigénica (ETEC) | <i>st</i> |
| Productora enterotoxina termoestable | |
| ETEC, productora enterotoxina termolábil | <i>lt</i> |
| <i>E. coli</i> Enteroinvasiva (EIEC) | <i>ipaC</i> , <i>ipaH</i> |
| <i>E. coli</i> productora de toxina Shiga (STEC) | <i>stx1</i> , <i>stx2</i> |
| <i>E. coli</i> Enterohemorrágica (EHEC) | <i>stx1</i> , <i>stx2</i> |
| <i>E. coli</i> Enteroagregativa (EAEC) | <i>eae</i> , <i>aatA</i> |

bfpA: pilus formador de mechones; **eae:** intimina; **st:** enterotoxina termoestable; **lt:** enterotoxina termolábil; **ipaC e ipaH:** codifica proteínas translocadoras del sistema de transporte tipo III; **stx1 y stx2:** toxina Shiga tipo 1 y 2; **aatA:** codifica una proteína de membrana para la translocación de proteínas patógenas.

1.2.3 *E. coli* patógena extraintestinal (ExPEC)

Las *E. coli* extraintestinales (ExPEC) son bacterias que, al ingresar en nichos distintos al intestino, son capaces de colonizar y causar infecciones del tracto urinario (ITU), el torrente sanguíneo, la próstata y en sitios no intestinales. Por lo general, estas cepas ocupan un nicho en la microbiota intestinal de humanos y animales. La clasificación de las cepas ExPEC, se lleva a cabo sobre la base del sitio de aislamiento y la detección de genes asociados a la virulencia, por lo que se subdivide en: 1) *E. coli* uropatógena (UPEC), 2) *E. coli* asociada a meningitis neonatal (NMEC), 3) *E. coli* patógena aviar (APEC) y 4) *E. coli* septicémica (SEPEC) (Goldstone *et al.* 2014; Lindstedt *et al.* 2018; Sarowska *et al.* 2019; Sheldon *et al.* 2010; Sora *et al.* 2021).

Entre las diferentes categorías de ExPEC, hay poco o ningún conjunto distintivo de factores de virulencia que sea específico para UPEC, APEC o NMEC (**Figura 1**). Sin embargo, la regulación de los FV clásicos puede ser un punto clave en la expresión del conjunto de genes específicos que permitan la colonización y el daño en los distintos nichos extraintestinales (Breland *et al.* 2017; Riley 2020).

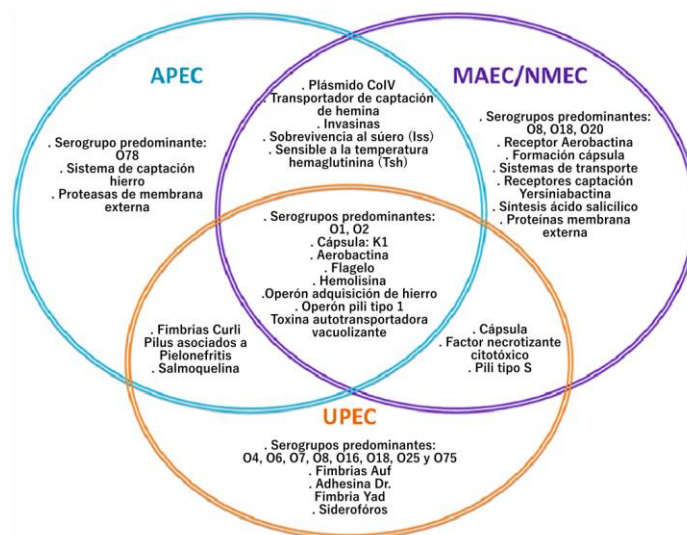


Figura 1. Características y algunos factores de virulencia propios de una categoría o compartidos, implicados en las infecciones por ExPEC. APEC: *E. coli* patógeno aviar; MAEC/NMEC: *E. coli* asociado a meningitis neonatal; UPEC: *E. coli* uropatógena (Traducido de Breland *et al.* 2017).

Dada la alta plasticidad genómica de *E. coli* no se cuentan con factores de virulencia únicos que permitan identificar cepas ExPEC y UPEC. Sin embargo, Jhonson y cols, 2015 proponen un esquema de FV. Ellos consideran que la presencia de dos de estos factores es suficiente para clasificar a los aislados como cepas ExPEC (Tabla 3).

Tabla 3. Esquema propuesto por Jhonson y cols, 2015 para la posible clasificación de cepas ExPEC.

| Autor | FV | Función |
|----------------------|-------------------|----------------------------|
| Johnson y cols, 2015 | <i>papAH/papC</i> | Adhesión |
| | <i>sfa/focDE</i> | |
| | <i>afa/draBC</i> | |
| | <i>iutA</i> | Sistema captación hierro |
| | <i>kpsMTII</i> | Evasión del sistema inmune |

FV: factor de virulencia. **papAH/papC:** subunidades fimbrias tipo -P; **sfa/focDE:** fimbrias S y F1C; **afa/draBC:** adhesinas de unión al antígeno Dr; **iutA:** receptor de aerobactina; **kpsMTII:** sistema de transporte ABC, para la translocación de la cápsula del grupo 2.

Actualmente no existen criterios genéticos concretos universalmente aceptados para definir a una cepa UPEC. El grupo de trabajo de [Spurbeck y cols, 2012](#) proponen un total de 4 genes predictores: *yfcV* (subunidad fimbrial), *chuA* (receptor del grupo hemo/hemoglobina), *fyuA* (receptor de yersiniabactina) y *vat* (toxina vacuolizante) para la identificación de cepas con un potencial uropatógeno ([Tabla 4](#)).

Tabla 4. Esquema de Spurbeck y cols, 2012 para la identificación de cepas con un posible potencial uropatógeno.

| Autor | FV | Función |
|-----------------------|-------------|--------------------------------|
| Spurbeck y cols, 2012 | <i>yfcV</i> | Adhesión |
| | <i>chuA</i> | Sistema de captación de hierro |
| | <i>fyuA</i> | |
| | <i>vat</i> | Toxina |

FV: factor de virulencia. **yfcV:** subunidad fimbrial; **chuA:** receptor del grupo hemo/hemoglobina; **fyuA:** receptor de yersiniabactina; **vat:** toxina vacuolizante.

Recientemente, [Brons y cols, 2020](#) propusieron un grupo de FV estrechamente asociados a la virulencia de *E. coli* uropatógena: *c3509*, *c3686* y *chuA* y que no se encuentran en el genoma de otros agentes etiológicos de ITU ([Tabla 5](#)). Se propone que estos genes se usen como marcadores para la identificación rápida de UPEC. El gen *c3509* codifica una presunta proteína de unión a ATP de un sistema de transporte tipo ABC, involucrado en el transporte de azúcares, metales, péptidos, aminoácidos y otros metabolitos, a través de la membrana. Esta proteína de acoplamiento de energía, probablemente este involucrada en la captación de oligoelementos o de manitol, el gen *c3686* codifica una proteína hipotética arabinosa-5-fosfato-isomerasa (API), asociada a la biosíntesis del KDO (3-deoxi-D-mano octulosonato) del LPS que favorece la evasión de la defensas del hospedero y *chuA* que codifica un receptor de membrana externa de compuestos que contienen grupo hemo/hemoglobina, dependiente de TonB ([Bao et al. 2017](#); [Brons et al. 2020](#); [Whitfield 2009](#)).

Tabla 5. Genes propuestos por Brons y cols, 2020 para la identificación de UPEC.

| Autor | FV | Función |
|--------------------|-------|--------------------------------|
| Brons y cols, 2020 | c3509 | ATPasa |
| | chuA | Sistema de captación de hierro |
| | c3686 | Evasión del sistema inmune |

1.3 *E. coli* uropatógena (UPEC) como modelo de estudio

Las cepas UPEC se asocian con un subconjunto de serogrupos (O1, O2, O4, O6, O7, O8, O16, O18, O25 y O75) y serotipos (O1:H4, O1:H6, O1:H7, O1:H -, O2:H1, O2:H4, O4:H5, O6:H1, O7:H4, O7:H6, O7:H-, O22:H1, O25:H1, O75:H5 y O75:H7), siendo el O25:H4 uno de los serotipos más asociados con enfermedades uropatógenas en todo el mundo. Este serotipo se caracteriza por presentar diversos FV, resistencia a antibióticos y una mayor producción de biopelícula. Tales características, le han favorecido en la supervivencia y crecimiento bacteriano en el tracto urinario, así como en otros sitios no intestinales ([Ballesteros-Monreal et al. 2020](#); [Kaur et al. 2022](#); [Noie Oskouie et al. 2019](#)).

[Forsyth y cols, 2018](#) plantean la hipótesis de que los aislamientos de UPEC se adaptan y crecen más rápidamente dentro del tracto urinario que otros aislados de *E. coli*. Lo que permitió identificar fenotipos distintivos, como la actividad de adherencia y hemolítica, que le confieren la capacidad para infectar y ocasionar un daño en el hospedero ([Forsyth. et al. 2018](#)). Además se ha demostrado que las cepas UPEC crecen extremadamente rápido en la orina con respecto a las cepas no patógenas. Esto podría ser un mecanismo para superar las defensas del hospedero, por lo que se ha propuesto que el crecimiento rápido sea considerado como un factor de virulencia. Es probable que la composición de la orina, sea crucial para mantener un microbioma genitourinario saludable o fomentar el crecimiento de UPEC. Recientes estudios comienzan a reconocer la importancia del rápido crecimiento y metabolismo estrechamente regulado para la virulencia ([Reitzer et al. 2019](#)).

1.3.1 Factores de virulencia (FV)

Para una infección exitosa dentro del huésped, las cepas UPEC necesitan características particulares, llamados factores de virulencia responsables de la patogenicidad asociada con las ITU y se clasifican en dos categorías: 1) Factores de virulencia expresados en la superficie

bacteriana: fimbrias, adhesinas, motilidad, cápsula, lipopolisacárido y 2) Factores de virulencia secretados cómo toxinas y sideróforos.

Muchos de los genes asociados con la virulencia son codificados en segmentos de 10 a 200 kb de su genoma que presentan un contenido de G+C diferente al de las otras partes del genoma denominadas islas de patogenicidad (PAI). Por ejemplo, el contenido de G+C del genoma central de UPEC 536 es del 50%, mientras que el contenido de G+C de las PAIs I₅₃₆, II₅₃₆, IV₅₃₆ y V₅₃₆ oscila en un 41% (Desvaux *et al.* 2020; Parvez 2019).

UPEC tiene la capacidad de colonizar el tracto urinario debido a que es capaz de expresar factores de virulencia que le permiten evadir las defensas del hospedero, adherirse y colonizar sitios anatómicos clave, además, de invadir y alterar la fisiología de un tejido determinado y/o activar una respuesta inflamatoria nociva del hospedero. Dentro de los componentes estructurales clave para el desarrollo de una ITU se encuentran el lipopolisacárido (LPS), la cápsula, el flagelo, los pili (tipo 1, P, F1C, S y F9), proteínas de membrana externa (OMP), toxinas secretadas (Sat, Vat), receptores de captación de hierro dependientes de TonB como *ChuA*, el receptor asociado a metales pesados, Hma y sus sideróforos (**Figura 2**) (Etefia *et al.* 2021).

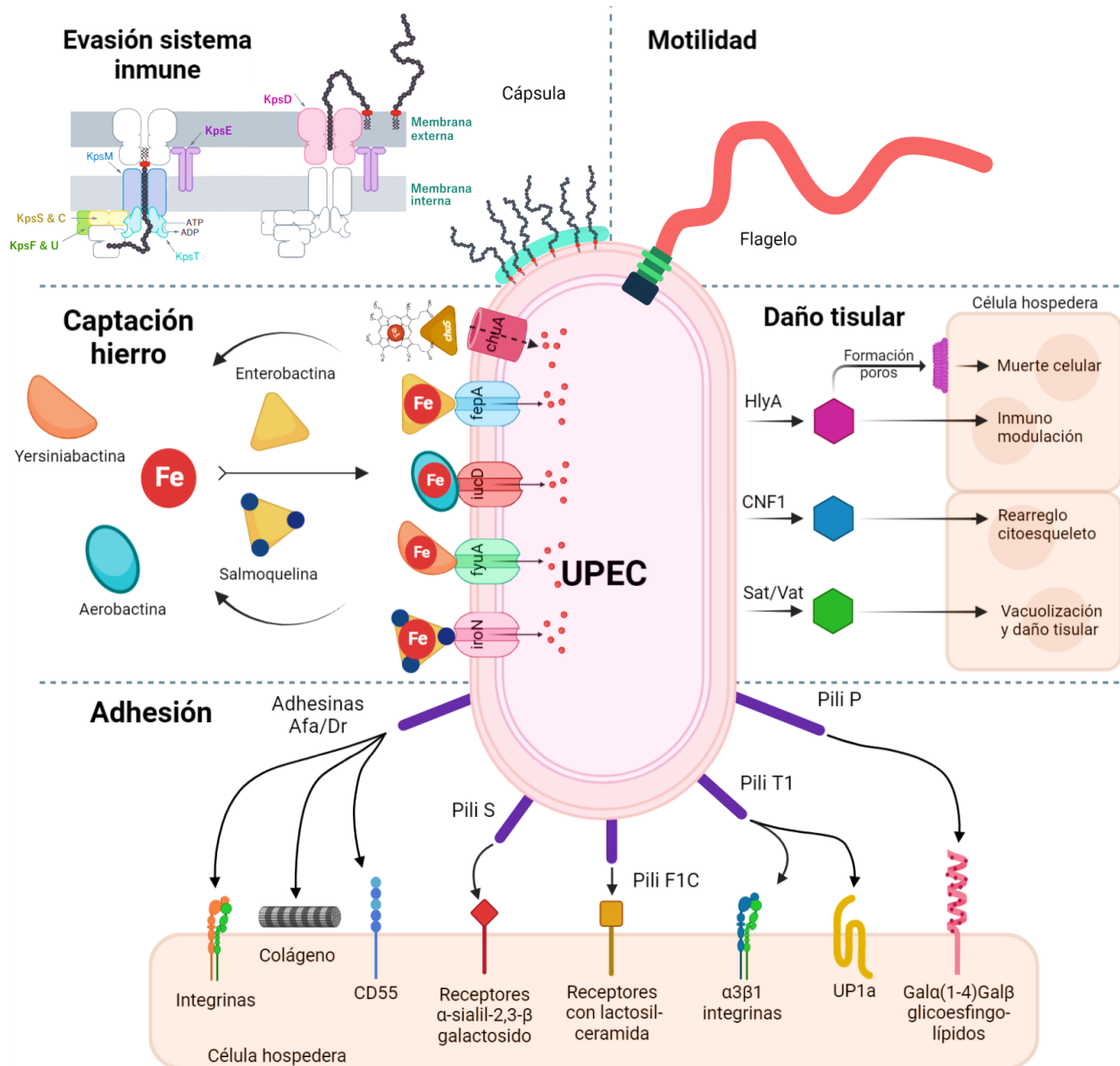


Figura 2. Factores clásicos de virulencia asociados a UPEC (Modificado Etefia *et al.* 2021).

1.3.1.1 Adhesinas

El proceso de patogenicidad de UPEC comienza con la adhesión a través de la expresión de fimbrias como la tipo 1, tipo 3, P, S, F1C, curli y Dr, que promueven la colonización e invasión de la célula hospedera a través de la interacción de sus adhesinas: FimH, Mrk, PapG, Sfas, *FocH*, CsgA y DrA, con sus respectivos receptores (Tabla 6). Existen otros componentes estructurales de la superficie bacteriana que juegan un papel importante en la virulencia, por ejemplo, el flagelo, responsable de la adhesión y motilidad e involucrado en la migración de la infección de la vejiga a los riñones y formación de biopelículas (Behzadi *et al.* 2021; Dębska-Ślizień 2018).

Tabla 6. Las adhesinas fimbriales y afimbriales de la UPEC y sus características en el organismo humano (Modificado Behzadi *et al.* 2017).

| Tipo de adhesinas | Adhesinas | Genes | Tropismo tisular | Manifestación clínica |
|----------------------|-------------------------------|---|---|--|
| | Fimbria tipo1 | <i>fimA fimB fimC fimD fimE fimF fimG fimH fimI</i> | Glóbulos rojos, células del urotelio, receptores de uroplaquina en vejiga | ITU |
| | Fimbria P | <i>papA papB papC papD papE papF papG papH papI papJ papK</i> | Células renales | ITU (en particular pielonefritis), ABU en pocos casos |
| | Fimbria S | <i>sfa sfaB sfaC sfaD sfaE sfaF sfaG sfaH sfaS sfaX sfaY</i> | Moléculas de ácido siálico en riñones y glomérulos endoteliales | ITU (pielonefritis) |
| | Fimbria F1C | <i>focA focC focD focF focG focH focI</i> | Glicolípidos de los endotelios y glomérulos | |
| Adherencia fimbrial | Fimbria F9 | <i>c1931 c1932 c1933 c1934 c1935 c1936</i> | ¿Células uroteliales? | ¿ITU? |
| | Fimbria tipo 3 | <i>mrk mrkA mrkB mrkC mrkD mrkE mrkF</i> | Receptores de uroplaquina en vejiga | ITU en pacientes con catéter |
| | Dr | <i>draA draB draC draD draE draP</i> | Células con el antígeno del grupo sanguíneo Dr en sus superficies como los urotelios, células neutrófilas, tejido conectivo en la parte superior del tracto urinario humano | Cistitis y pielonefritis, sobre todo en mujeres embarazadas y ABU en pocos casos |
| | Fimbrias Auf (otras fimbrias) | <i>aufA aufB aufC aufD aufE aufF aufG</i> | Desconocido | ITUs |
| | Curli | <i>csgA csgB csgC csgD csgE csgF csgG</i> | Fibronectina y plasminógeno en células de la mucosa | Cistitis |
| Adherencia afimbrial | AFA | <i>afal afall afalll afalV nfal drll</i> | Células uroteliales, neutrófilos y tejido conectivo del tracto urinario | Cistitis, pielonefritis y ABU |

ITU: infección del tracto urinario; **ABU:** bacteriuria asintomática.

1.3.1.2 Toxinas

Las cepas UPEC utilizan los sistemas de secreción de tipo I y V para secretar toxinas como α -hemolisina (HlyA), el factor necrotizante citotóxico 1 (CNF1) y toxina autotransportadora secretada (Sat) y vacuolizante (Vat). Provocando lisis celular induciendo la disponibilidad de nutrientes lo que aumenta la capacidad citotóxica en el tracto urinario. HlyA es una proteína codificante de α -hemolisina. Se inserta en las membranas del hospedero y forma poros que permiten la entrada de Ca^{2+} en las células del hospedero, alterando su fisiología provocando la muerte celular. Esta codificada en ~ 50% de los aislados de UPEC y su expresión se asocia con una mayor gravedad clínica en pacientes con ITU. La toxina CNF1 se ha reportado en ~30% de las cepas UPEC induciendo cambios celulares basados en el reordenamiento del citoesqueleto de actina en las células del hospedero, activando la vía RhoGTPasas (RhoA, Rac y Cdc42). Además de alterar las vías de señalización que activan cascadas de cinasas que regulan la expresión génica,

la proliferación celular y la apoptosis. La toxina autotransportadora vacuolizante (Vat) se ha identificado en 20-36% de UPEC y está presente en casi 68% de los aislados específicos de urosepsis. Esta toxina tiene un efecto citotóxico en el tejido endotelial de la vejiga y el riñón, induce la formación de vacuolas, la pérdida de contacto célula-célula en urotelio. La toxina autotransportadora secretada (Sat) ha sido identificada en el cromosoma de CFT073, dentro de la PAI II_{CFT073}. Sat desencadena un efecto citotóxico sobre la vejiga y el riñón, asociándose principalmente a pielonefritis (Asadi *et al.* 2019; Etefia 2021; Kaur *et al.* 2022).

1.3.1.3 Sistema de captación de hierro

UPEC requiere de micronutrientes como el hierro, requerido en concentraciones micromolares involucrado como cofactor en diversos procesos biológicos bacterianos; síntesis y transcripción de DNA, ciclo del ácido tricarbóxico y en la cadena transportadora de electrones. Por lo que una carencia de hierro provocaría arresto del crecimiento bacteriano. En la orina el contenido de hierro es bajo de cerca de 0.1 $\mu\text{mol/L}$ en estado de homeostasis, por lo que UPEC ha desarrollado múltiples sistemas de captación que le permiten tomar el hierro del medio y posteriormente concentrarlo en el citosol bacteriano, donde es liberado. UPEC tiene tres sistemas de captación de hierro; sideróforos, hemóforos y captación directa de hierro en su estado ferroso. El hierro es obtenido mediante moléculas quelantes, conocidas como sideróforos. En UPEC se han detectado 4 diferentes sideróforos: enterobactina y salmoquelina (sideróforos tipo catecolatos), aerobactina y yersiniobactina (sideróforos tipo hidroxamato), característica que refleja su adaptación al entorno del tracto urinario. Además, UPEC posee genes que codifican receptores de hierro asociado al hemo, como *chuA* y *hma* que juegan un papel importante en la formación de comunidades intracelulares bacterianas (IBC). Sin embargo, existe un proceso denominado inmunidad nutricional, que es una estrategia biológica en la que el hospedero restringe la disponibilidad de hierro al uropatógeno, mediante la presencia de lipocalina-2, una proteína soluble liberada por los neutrófilos y secretada por las células epiteliales urinarias en respuesta a estímulos inflamatorios; durante este proceso pueden ocurrir dos escenarios en UPEC: 1) donde la lipocalina-2 se une al sideróforo enterobactina, evitando el secuestro del hierro y 2) donde por medio de glicosilación, sea capaz de modificar la enterobactina, a salmoquelina evitando el secuestro del hierro por el hospedero.

1.3.1.4 Evasión del sistema inmune

Otros factores de virulencia expresados por UPEC incluyen la síntesis de la cápsula, compuesta de polisacáridos que cubre y protege a UPEC al interior de la célula hospedera permitiéndole resistir la fagocitosis. El antígeno capsular K se clasifica en 4 grupos de acuerdo a su mecanismo de biosíntesis y ensamblaje. Los del grupo 1 y 4, están asociadas a las infecciones diarregógicas, mientras que las del grupo 2 y 3 a infecciones extraintestinales.

Las cápsulas del grupo 2 presentan tres regiones; de las cuales la región 1 y 3 son conservadas, la región 1 consta de seis genes (*kpsFEDUCS*), la región 2 contiene los genes que codifican las proteínas responsables de la síntesis capsular (*neuDBACES*), mientras que la región 3 contiene dos genes (*kpsMT*) transcritos de manera divergente con respecto a la región 1 y que esta asociada a un transportador de casete de unión a ATP. La regulación de estos genes está dada por dos regiones promotoras convergentes PR1 y PR3, situados río arriba de las regiones 1 y 3 (Figura 3). Se cree que las regiones 1 y 3 están involucradas en la exportación de la cápsula sintetizada por los genes de la región 2, desde la cara citoplasmática hasta la membrana extracelular (King *et al.* 2015; Whitfield 2009).

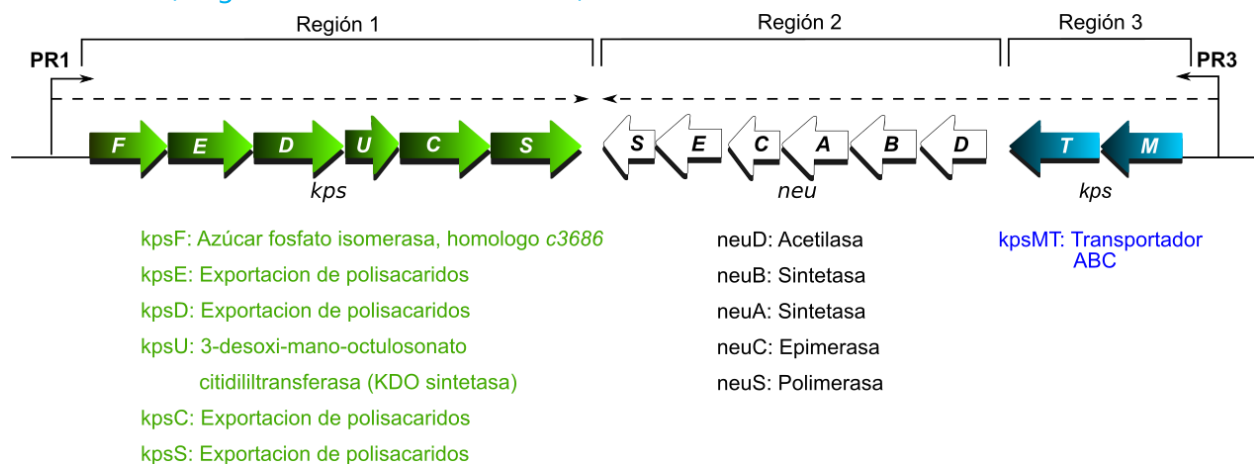


Figura 3. Organización genética de la cápsula del grupo 2 (Modificado de King *et al.* 2015).

1.3.2 Elementos genéticos móviles (MGE)

La transferencia genética horizontal (TGH) entre bacterias está mediada por elementos genéticos móviles (MGE), como plásmidos y bacteriófagos (fagos), que proporcionan una importante diversidad genética al contener un vasto repertorio de genes accesorios, brindándole a la célula hospedera una ventaja selectiva, como la resistencia a los antibióticos. Existen también otros MGE denominados transposones, que pueden movilizar y reorganizar el ADN cromosómico.

Estos elementos se movilizan de una célula a otra a través de plásmidos y fagos. Los MGE pueden ser adquiridos, ya sea por el proceso: 1) transformación con ADN libre, 2) transducción con fagos o 3) la captación de plásmidos o fragmentos cromosómicos por conjugación. Estos procesos han permitido el desarrollo de nuevas variantes de patógenos (patotipos). Se sabe que aproximadamente el 40% del genoma de *E. coli* fue adquirido por TGH ([Geurtsen et al. 2022](#); [Riley 2020](#); [Rodríguez-Beltrán et al. 2020](#)).

1.3.2.1 Islas de patogenicidad (PAIs)

Las Islas de patogenicidad (PAIs) son un grupo de elementos genéticos grandes (> 10 kb – 200 kb) que codifican uno o más factores de virulencia que se encuentran ausentes en genomas del tipo comensal de la misma especie o de especies estrechamente relacionadas. A diferencia de los bacteriófagos, plásmidos, secuencias de inserción, las PAIs no son replicativos y carecen de la capacidad de automovilizarse. Frecuentemente están asociadas a genes que codifican ARNt, tienen un contenido de G+C diferente del genoma bacteriano. Las cepas UPEC suelen albergar dos o más PAI. Cuanto mayor sea el número de PAI que tiene una cepa UPEC, más probable será su persistencia. La cepa prototipo UPEC CFT073 presenta 10 islas genómicas ([Tabla 7](#)). El genoma de CFT073 es particularmente rico en genes que codifican adhesinas fimbriales, autotransportadores y sistemas de adquisición de hierro. La primera descripción de PAIs en UPEC se reportó en la cepa 536 a finales de los 80s, y posteriormente se analizaron diferentes PAIs de las cepas J96 y CFT073 ([Desvaux et al. 2020](#); [Lloyd et al. 2007](#); [Xicohtencatl-Cortes et al. 2019](#)).

Tabla 7. Islas genómicas identificadas en la cepa prototipo CFT073 (Tomada de Desvaux *et al.* 2020).

| No. | Nombre PAI | ARNt | Tamaño (kb) | %GC | Proteínas que codifica |
|-----|--|-------------|-------------|-----|--|
| 01 | PAI-CFT073-aspV (III _{CFT073}) | <i>aspV</i> | 100 | 47 | Pic, Hma, TosA, Fbp |
| 02 | PAI-CFT073-serX | <i>serX</i> | 113 | 49 | Pilus -S, Salmoquelina, Ag43 |
| 03 | PAI-CFT073-icd | <i>icd</i> | 54 | 50 | Sistema Sit |
| 04 | PAI-CFT073-serU | <i>serU</i> | 22 | 38 | TcpC |
| 05 | PAI-CFT073-asnT (HPI) | <i>asnT</i> | 32 | 57 | Yersiniabactina |
| 06 | PAI-CFT073-asnW | <i>asnW</i> | 54 | 53 | Colibactina |
| 07 | PAI-CFT073-cobU | <i>cobU</i> | 43 | 49 | Hma, Fbp |
| 08 | PAI-CFT073-argW | <i>argW</i> | 17 | 44 | IpuA, IpuB, DsdA |
| 09 | PAI-CFT073-pheV (I _{CFT073}) | <i>pheV</i> | 123 | 47 | α-hemolisina, Pilus P, Iha, Sat Aerobactina, Ag43, Cápsula K2 |
| 10 | PAI-CFT073-pheU (II _{CFT073}) | <i>pheU</i> | 52 | 48 | Pilus P, IreA |

Pic: serina proteasa autotransportador; **Hma:** receptor del grupo hemo/hemoglobina; **TosA:** proteína TosA; **Fbp:** adquisición de hierro; **Ag43:** antígeno 43; **Sistema Sit:** transportador de Fe y Mn; **TcpC:** dominio TLR que contiene la proteína C; **IpuA/IpuB:** recombinasa; **DsdA:** regulador transcripcional; **Iha:** adhesina homóloga a IrgA; **Sat:** toxina autotransportadora secretada; **IreA:** gen de virulencia regulado por el hierro.

1.3.2.2 Plásmidos

Los plásmidos son elementos genéticos que se replican independientemente del cromosoma y que son capaces de transferir información genética horizontalmente entre bacterias en un proceso conocido como conjugación. De este modo los plásmidos permiten a las bacterias acceder a nuevos caracteres adaptativos. El ejemplo más ilustrativo, es el papel clave que han jugado los plásmidos en la diseminación de mecanismos de resistencia a antibióticos. En particular, el plásmido pUTI89 de aproximadamente 114 kb que muestra la característica de un plásmido F, ya que contiene el operón de los genes *tra* para la transferencia conjugativa y genes asociados con la replicación. Dicho plásmido se ha reportado con alta prevalencia en aislados clínicos de UPEC y se reconoce que participa en etapas tempranas de la infección del tracto urinario y en la replicación bacteriana intracelular del uropatógeno (Cusumano *et al.* 2010; Millan *et al.* 2017; Ramírez-Santoyo *et al.* 2020).

Los plásmidos se pueden clasificar con base en su maquinaria proteica asociada con la transferencia de ADN, *includA* la relaxasa, la proteína de acoplamiento tipo IV (T4CP) y los sistemas de secreción tipo IV (T4SSs) en tres categorías: 1) conjugativos, 2) movilizables (MOB) y 3) no movilizables. Los plásmidos conjugativos codifican todas las funciones de transferencia; un *oriT* (origen de transferencia), una relaxasa, una proteína de acoplamiento T4CP y un sistema de

secreción tipo 4 (T4SS). Mientras que los plásmidos movilizables cuentan con un *oriT*, una relaxasa y proteínas accesorias a menudo presentes en transposones y/o integrones, donde T4CP puede o no estar presente por lo que este tipo de plásmidos requiere de un plásmido conjugativo para ser movilizadado ([Che et al. 2021](#); [Millan et al. 2017](#); [Smillie et al. 2010](#)).

1.3.2.3 Integrones/Casete de resistencia

Los integrones son MGE que capturan y reorganizan genes exógenos mediante una recombinación específica del sitio, para luego expresar estos genes a partir de un promotor. Estos determinantes genéticos cuentan con tres componentes principales: 1) una integrasa (*intI*), 2) un sitio específico de recombinación (*attI*) reconocido por la integrasa y dentro del cual se inserta el casete y 3) un promotor (*Pc*) que dirige la transcripción de los genes codificados en el casete. Los casetes de genes circulares son segmentos de ADN que contienen un sitio de recombinación (*attC*) que puede integrarse al *attI* por efecto de la integrasa. Este proceso también puede ser reversible y conducir a la eliminación del casete génico ([Akrami et al., 2019](#); [Ghaly et al. 2020](#)).

La mayoría de los integrones se encuentran en los cromosomas bacterianos. Los tipos más comunes son los de clase I (derivados de Tn402 y los más prevalentes entre los aislados clínicos), seguidos de los de clase II y III. Los integrones de clase I son los más prevalentes en *E. coli* en cepas de pacientes con ITU, mayormente distribuidos en los filogrupos B2 y D. Estos integrones clase I están asociados con plásmidos y transposones, albergando varios casetes de genes de resistencia como *dfp* (dihidroflavonol-4-reductasa), β -lactamasa de amplio espectro, *qacE Δ 1* (desinfectante compuesto de amonio cuaternario), *sul1* (sulfonamida) y enzimas modificadoras de aminoglucósidos (AME). Los integrones de clase II se encuentra en la familia de transposones Tn7 ([Akrami et al. 2019](#); [González-Villalobos et al. 2022](#); [Ghaly et al. 2021](#); [Poey et al. 2014](#); [Ramírez-Castillo et al. 2018](#)).

1.3.2.4 Secuencias de inserción (IS)

Las secuencias de inserción (IS) son elementos genéticos móviles bacterianos, responsables de la movilización de muchos genes, incluidos los genes de resistencia a los antibióticos. Estas secuencias se descubrieron por primera vez a finales de la década de 1960 a través de su capacidad para generar mutaciones que pueden ser perjudiciales, neutras o beneficiosas. Estos elementos son pequeños (~0,7 a ~2,5 kb) que cuentan con una transposasa

(Tnp) y sitios de repeticiones invertidas (IR), donde se llevan a cabo procesos de recombinación homóloga, es decir, que pueden participar como mediadores para incorporar MGE de mayor tamaño dentro del cromosoma. Dentro de la cepa UPEC CFT073 se han encontrado IS como ISEc10 e IS200c. La presencia/inserción de ISEc10 en el promotor o en las regiones del gen *ampC* cromosómico causa una alta expresión del gen; además, de ser responsable de la resistencia a las cefalosporinas. Mientras que IS200c es portador de la transposasa TnpA, que contribuye a la movilidad de las IS. Otro tipo de IS se han reportado en aislados UPEC como son IS903, IS26, ISEcp1 y una alta prevalencia de genes *CTX-M* de los grupos 1, 2, 8, 9 y 25. Particularmente IS26 se ha asociado con el reclutamiento y propagación de genes de resistencia a antibióticos y con integrones de clase 1. La *ISEcp1* esta implicada en la movilización, propagación y expresión de genes *CTX-M* pertenecientes a los grupos 1, 2, 9 y 25 (Consuegra *et al.* 2021; Harmer and Hall 2020; Jayanthi *et al.* 2021; Sun *et al.* 2020; Varani *et al.* 2021).

1.3.3 Infecciones del tracto urinario (ITU)

Las infecciones del tracto urinario (ITU) siguen siendo una de las principales causas de mortalidad que afectan a la humanidad desde su primera descripción en papiros del antiguo Egipto en 1550 a.C. (Jhang and Kuo 2017). Una ITU ocurre cuando el patógeno logra ingresar al sistema del tracto urinario y alcanzar $\geq 10^5$ bacterias/mL en orina. Se sabe que entre el 80-85% de las infecciones son causadas, principalmente, por bacterias Gram-negativas, provenientes del tubo digestivo (Brons *et al.* 2020; Flores-Mireles *et al.* 2015). Se estima que afecta a 150 millones de personas anualmente a nivel mundial. En México, en el año 2020 se reporta que las ITU figuran como la segunda causa de morbilidad después de las infecciones intestinales. De acuerdo al reporte anual del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE), para el año 2021 a nivel nacional, se reportaron un total de 2,886,014 casos, afectando principalmente a la población femenina (2,252,053 casos), seguido de la población masculina (633,961 casos) (Figura 4).

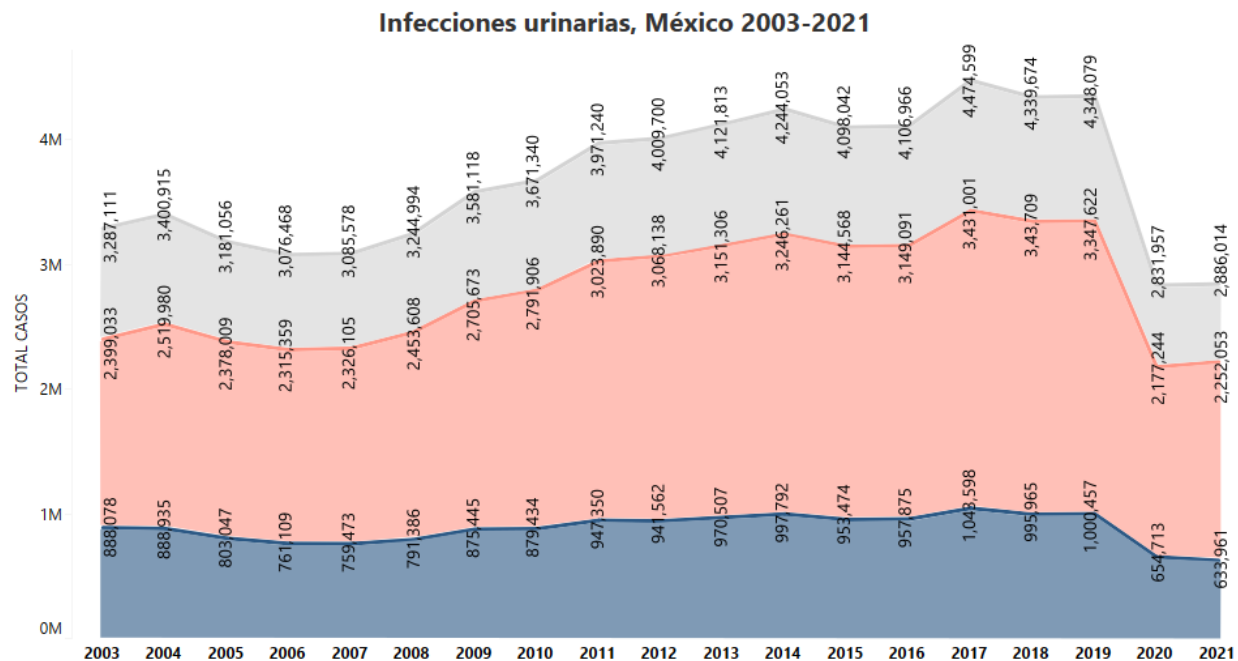


Figura 4. Gráfico histórico de ITU en México, 2003-2021. Color gris: casos totales; Rosa: Casos de mujeres; Azul: casos en varones (Elaboración propia).

En el Estado de Puebla, para el año 2021 se reportaron un total de 130,506 casos, de los cuales 104,510 fueron asociados a casos en mujeres y tan solo 25,996 a varones (**Figura 5A**). Los grupos de edad más afectados por este tipo de infecciones en varones es el grupo de 25–44 años; presentándose 9,295 casos en 2015; 8,622 casos en 2016; 11,117 casos para 2019; 7,359 casos en 2020; seguido por el grupo de 65 años y más con: 7,134 casos en 2015; 7,210 casos para 2016; 7,313 casos en 2019; 4,747 casos en 2020 (**Figura 5B**). Andreu 2005 reportan que los factores de riesgos asociados a una ITU son primordialmente la edad, los hábitos sexuales, las condiciones fisiológicas, así como las condiciones anatómicas del tracto urinario (Andreu 2005). Los datos registrados de ITU en el 2020 son subestimados, debido a que en este periodo muchos de los pacientes, dejaron de asistir con regularidad a consulta, dada la contingencia por COVID-19.

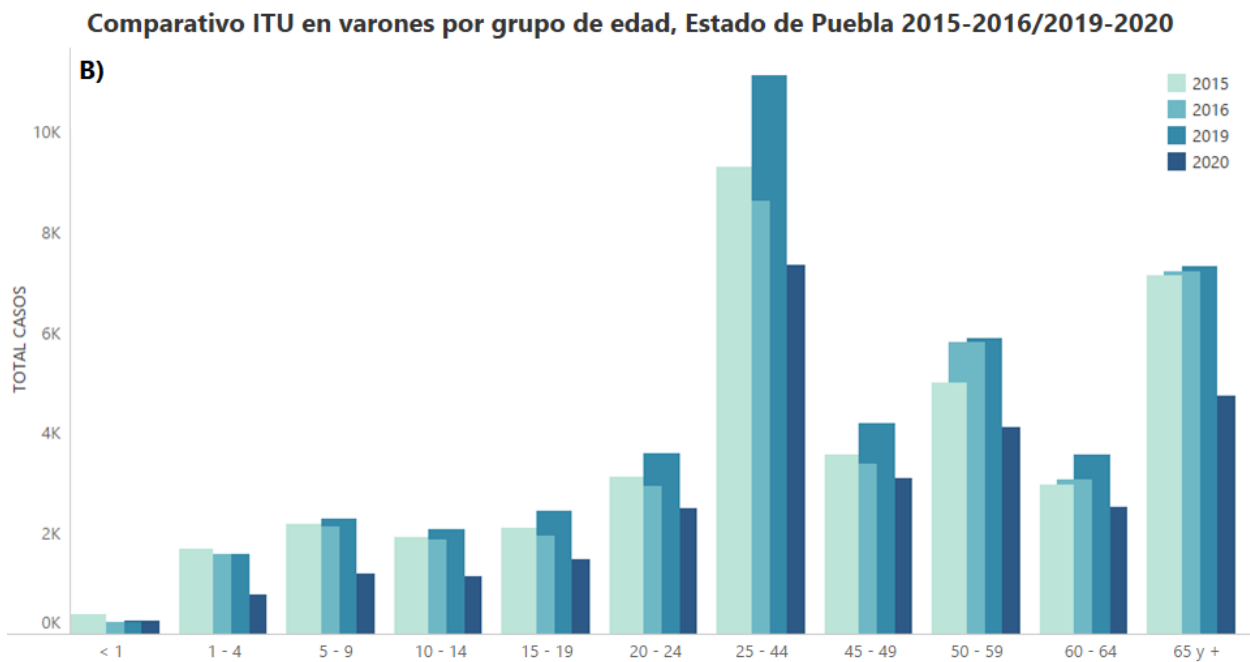
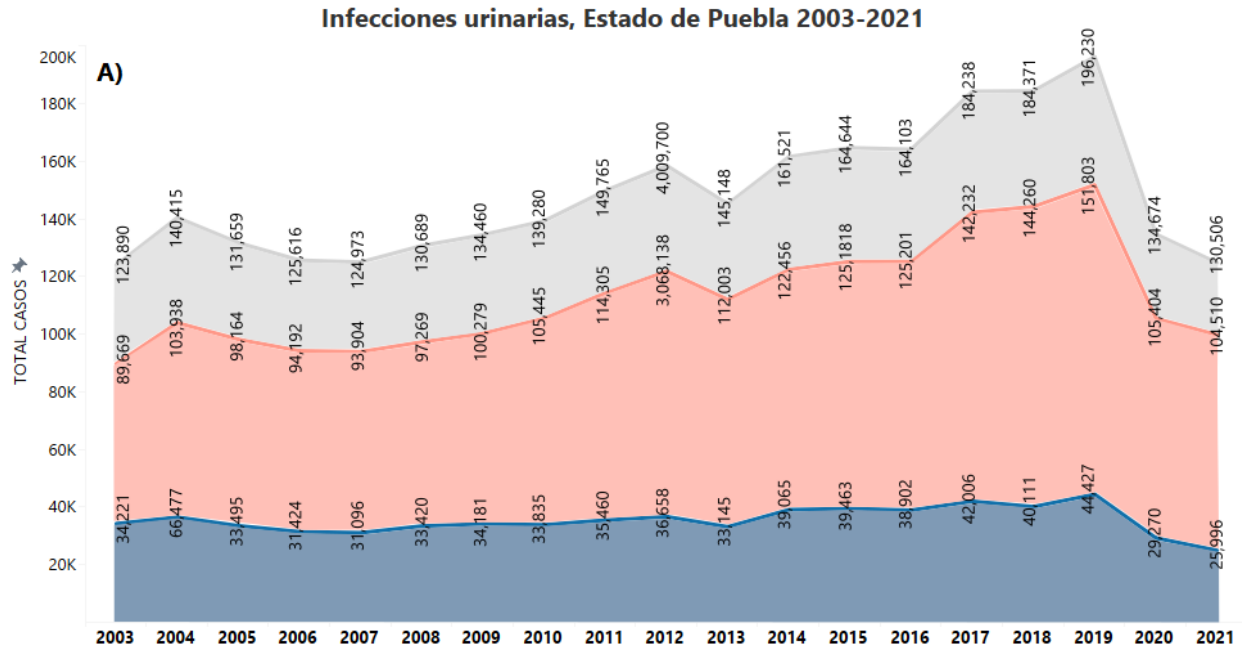


Figura 5. A) Gráfico histórico de ITU reportadas en Puebla, 2003-2021. **B)** ITU en varones por grupo de edad en el Estado de Puebla, 2015-2016/2019-2020.

Epidemiológicamente, las mujeres tienen una incidencia significativamente mayor de infección del tracto urinario que los varones, por el contrario, la ITU masculina es más persistente. Se desconocen los mecanismos subyacentes a estas diferencias basadas en el sexo, en parte debido a la falta de modelos experimentales. Zychlinsky Scharff y cols, 2019 optimizaron un modelo para infectar transuretralmente a ratones macho y comparar directamente la ITU en

ambos sexos. Los ratones hembra tuvieron respuestas innatas más sólidas; mayor expresión de IL-17, un aumento de las células T $\gamma\delta$ y células linfoides innatas del grupo 3 en la vejiga después de la infección. Su hallazgo respalda el concepto de que las respuestas a la ITU basadas en el sexo contribuyen al deterioro de la inmunidad innata en los varones y proporciona una justificación para la orientación inmunitaria no basada en antibióticos para mejorar la respuesta a la ITU (Zychlinsky Scharff *et al.* 2019).

1.3.3.1 Clasificación de las ITU

Clínicamente, las ITU se dividen en complicadas y no complicadas. Las ITU complicadas son aquellas que se presentan en el tracto urinario con alteraciones anatómicas o funcionales como la incontinencia y en el patrón miccional. En los varones, la mayoría de las ITU se producen en niños o pacientes de edad avanzada, y se les consideran complicadas, debido a anomalías anatómicas; hiperplasia prostática benigna (HBP), malformaciones congénitas del tracto urogenital, así como la intervención de dispositivos médicos (catéter) y condiciones inmunosupresoras como cáncer y diabetes millitus (Asadi *et al.* 2019; Mann *et al.* 2017; Spaulding *et al.* 2018).

Las ITU no complicadas, se encuentran en pacientes que tienen un sistema de tracto urinario sano, sin una historia reciente de dispositivos médicos. Las raras infecciones urinarias que se producen en varones de 15 a 50 años suelen ser varones que tienen relaciones sexuales sin protección (principalmente sexo anal), aquellos que no están circuncidados o asociados con el consumo de alcohol y drogas. Una encuesta a gran escala se reporta que el 38% de los hombres de entre 20 y 39 años y el 33% de las mujeres de entre 18 y 44 años habían tenido relaciones sexuales anales heterosexuales en su vida. Sin embargo, en los últimos años se viene produciendo una serie de cambios en el comportamiento sexual de los hombres que tienen sexo con hombres. Por ejemplo, se informa de una tendencia creciente de sexo anal no protegido en el sentido que los jóvenes no perciben actualmente riesgo de muerte en el VIH produciendo un importante incremento de las prácticas sexuales de riesgo, la prevalencia del VIH y de otras infecciones de transmisión sexual (ITS). Se hace evidente la ausencia y la necesidad de educación sexual no heteronormativa en la enseñanza secundaria (Asadi *et al.* 2019; Gómez-Bueno *et al.* 2022; Kimberly *et al.* 2010; Mann *et al.* 2017).

Según su ubicación anatómica las ITU se clasifican en inferiores que incluyen cistitis, uretritis y prostatitis, y superiores que incluyen la pielonefritis. En las mujeres de entre 20 y 50 años, la mayoría de las ITU se presentan como cistitis o pielonefritis. En los varones, de la misma edad, se presentan como uretritis o prostatitis (Ambite *et al.* 2021; Asadi *et al.* 2019).

1.3.3.2 Etiología

Las ITU son causadas por bacterias Gram positivas y Gram negativas, así como algunas especies de hongos. Sin embargo, UPEC es el principal agente causal en la mayoría de las ITU complicadas (65%), como las no complicadas (75-90%). Asimismo UPEC se le asocia entre un 70-80% con las infecciones urinarias adquiridas en la comunidad y en menor proporción (50%) a infecciones intrahospitalarias (Flores-Mireles *et al.* 2015; Kot 2019).

1.3.4 Tratamiento de ITU y resistencia antibiótica

El objetivo del tratamiento frente a una ITU es desaparecer la sintomatología y eliminar al uropatógeno. Actualmente los antibióticos (ATB) recomendados para infecciones en vías bajas (cistitis) no complicadas son nitrofurantoína, fosfomicina, trimetoprima-sulfametoxazol (TXS) y amoxicilina/ácido clavulánico como terapia de primera elección, prevaleciendo el uso de nitrofurantoína sobre las fluoroquinolonas (FQ) en el tratamiento empírico debido a las bajas tasas de resistencia en *E. coli*.

Comúnmente el tratamiento para las infecciones del tracto superior (pielonefritis) son las FQ, cefalosporinas de espectro extendido y las combinaciones de β -lactámicos/inhibidores de betalactamasas. El uso de FQ se encuentra entre los fármacos selectivos para el tratamiento tanto de ITU complicadas como no complicadas, para los cuales se reporta una resistencia significativa. El uso generalizado y excesivo de ATB, así como la mala prescripción y sobre todo la automedicación en este tipo de padecimiento provoca no solo la gravedad y cronicidad de la infección sino también el riesgo de seleccionar resistencia antibiótica. En países en desarrollo, como es el caso de México, existe una alta resistencia a estos ATB que oscila entre un 48 – 85 %, excepto para nitrofurantoina y fosfomicina (**Figura 6**) (Kot 2019; Levison and Kaye 2013).

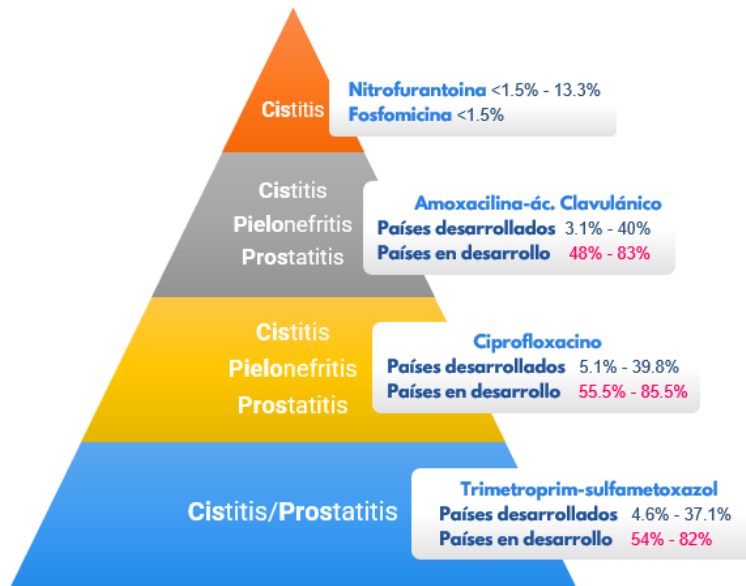


Figura 6. Resistencia de antibióticos de UPEC en el tratamiento de las ITU (Modificado Kot *et al.* 2019).

El uso indebido de antibióticos durante el tratamiento ha provocado la selección de cepas con la capacidad de adquirir resistencia a través de diversos mecanismos; bombas de expulsión, inactivación del antibiótico, alteración o protección del sitio diana del antibiótico. Los elementos genéticos móviles; transposones, integrones y plásmidos conjugativos, son los principales impulsores de la propagación de genes de resistencia en UPEC. En la **Tabla 8**, se presentan los principales genes de resistencia a antibióticos reportados en cepas UPEC.

Tabla 8. Genes de resistencia reportados en cepas UPEC (Tomado de Rozwadowski *et al.* 2020).

| Agente antimicrobiano | Gen de resistencia | Mecanismo de resistencia |
|-----------------------|---|---|
| β-lactámicos | <i>bla_{TEM}</i> | Hidrólisis del antibiótico |
| | <i>bla_{OXA}</i> | |
| | <i>bla_{CTX-M}</i> | |
| | <i>bla_{SHV}</i> | |
| | <i>bla_{VEB}</i> | |
| | <i>bla_{PER}</i> | |
| | <i>bla_{KPC}</i> | |
| | <i>bla_{VIM}</i> | |
| | <i>ampC</i> | |
| Aminoglucósidos | <i>aadA</i> | Adenililtransferasa, modificación del antibiótico |
| | <i>armA</i> | Metilasa, |
| | <i>rmtB</i> | Modificación del sitio diana |
| | <i>aac(3)-IIa</i> <i>aacA2</i> <i>aacA4</i> | Acetiltransferasa, Modificación del antibiótico |
| Quinolonas | <i>qnrA</i> | Modificación del sitio diana |
| | <i>qnrB</i> | |
| | <i>qnrC</i> | |
| | <i>qnrD</i> | |
| | <i>qnrS</i> | |
| | <i>mfpA</i> | |

| | | |
|---------------|--|--|
| | <i>qepA</i> <i>oqxAB</i> | Bomba de eflujo |
| Tetraciclinas | <i>tet(A)</i> <i>tet(B)</i> | Bomba de eflujo |
| Sulfonamidas | <i>dfrA1</i> <i>sul1</i> <i>sul2</i> | Modificación del sitio diana |
| | <i>ere(2)</i> | Hidrólisis del antibiótico |
| Macrólidos | <i>acrB</i> <i>acrA</i> <i>macB</i> | Bomba de eflujo |
| | <i>mph(A)</i> | Fosfotransferasa, Modificación del antibiótico |
| Vancomicina | <i>vanA</i> | Modificación del sitio diana |
| Colistina | <i>mcr-1</i> | Fosfatidiletanolamina transferasa, modificación del sitio diana |

1.3.4.1 β -lactámicos

Los β -lactámicos son un grupo de antibióticos que incluyen penicilinas, cefalosporinas, carbapenems y monobactámicos. Estos antibióticos inhiben eficazmente la actividad catalítica de las transpeptidasas bacterianas, también conocidas como proteínas de unión a penicilina (PBP). Además, estas enzimas se encuentran involucradas en los péptidos de entrecruzamiento para la formación del peptidoglicano, componente principal de la pared celular. La evidencia muestra que las transpeptidasas o PBP en presencia de los β -lactámicos inducen enlaces entrecruzados débiles de peptidoglicano, lo que hace que el crecimiento bacteriano sea muy susceptible a la lisis y muerte celular. Sin embargo, los bacilos Gram negativos, como *E. coli*, son capaces de producir β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), enzimas que destruyen los β -lactámicos, inactivándolos y haciéndolos ineficaces. La combinación de un β -lactámico con un inhibidor de β -lactamasa puede restablecer esa eficacia. Estas enzimas pueden codificarse tanto en cromosoma, como en plásmidos. Aquellas que están codificadas en plásmidos pueden localizarse junto a genes de resistencia hacia otras familias de antibióticos como los aminoglucósidos, (fluoro)quinolonas y sulfonamidas (Moreira-Lima *et al.* 2020).

Las BLEE representan el grupo más diverso de las β -lactamasas de clase A e incluyen tres tipos principales: TEM, SHV y CTX-M. Esta última, confiere resistencia predominantemente a cefotaxima. Hasta la fecha, se han identificado y descrito más de 172 tipos de CTX-M agrupados en cinco clústeres con base en su secuencia de aminoácidos: CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 y CTX-M-25. En lo que respecta a una patología, las CTX-M se encuentran fuertemente asociados a ITU (Ramadán *et al.* 2019; Rozwadowski *et al.* 2022).

1.3.4.2 Aminoglucósidos

Los aminoglucósidos son antibióticos bactericidas de amplio espectro que inhiben la síntesis de proteínas bacterianas al unirse a la subunidad ribosómica 30S. Además de ser utilizados para el tratamiento de infecciones bacterianas graves. A menudo estos son utilizados sinérgicamente con antibióticos que tienen como blanco la pared celular bacteriana. Los aminoglucósidos se excretan casi en su totalidad a través de los riñones por filtración glomerular. De acuerdo con [Fleece y cols, 2018](#) existen tres mecanismos de resistencia a los aminoglucósidos: 1) captación reducida y aumento de eflujo por la expresión de bombas de expulsión AcrD, 2) alteración del ARN diana, metilación del sitio de unión del antibiótico *rmtB* y 3) modificación enzimática del aminoglucósido. Este mecanismo es el tipo más común de resistencia a los aminoglucósidos. Los genes asociados a este mecanismo se clasifican en tres clases: 1) acetiltransferasas *aac*(1), *aac*(2), *aac*(3) y *aac*(6), 2) nucleotidiltransferasas *ant*(2), *ant*(3), *ant*(4), *ant*(6) y *ant*(9), y 3) fosfotransferasas *aph*(2), *aph*(3), *aph*(4), *aph*(6), *aph*(7) y *aph*(9) ([Fleece et al. 2018](#); [Rozwadowski et al. 2022](#)).

1.3.4.3 Quinolonas

Las quinolonas inhiben la actividad de las enzimas ADN girasa y topoisomerasa bacterianas, importantes para el proceso de replicación. La resistencia cromosómica produce una disminución de la permeabilidad de la membrana externa relacionada con la pérdida de porinas, mientras que la sobreexpresión de las bombas de expulsión genera mutaciones en los objetivos moleculares: ADN girasa y la topoisomerasa IV. Estas mutaciones se encuentran en la región determinante de resistencia a las quinolonas (QRDR) en los genes *gyrA* (Ser83Leu, Asp87Asn), *gyrB* (Asp426Asn, Lys447Glu), *parC* (Ser80Arg, Ser80Ile, Glu84Gly, Glu84Lys, Glu84Val) y *parE* (Ile444-Phe, Ser458Thr, Ile529Leu) encontrados principalmente en cepas UPEC; que codifican las subunidades de ADN girasa y topoisomerasa IV. A pesar de que el determinante *qnr* es el primer gen reconocido de resistencia a quinolonas mediado por plásmidos, se han contabilizado cinco nuevos linajes de genes *qnr*: *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD* y *qnrS*. El segundo tipo de gen resistente a quinolonas posicionado en plásmido es una variante *cr* de *aac(6)-Ib*, es decir, *aac(6)-Ib-cr*, que codifica aminoglucósido acetil transferasa. El tercer mecanismo de resistencia involucra al gen *qepA*, una bomba de eflujo mediada por plásmido junto con su derivado de *E. coli* *qepA2*, capaz

de expulsar fluoroquinolonas como ciprofloxacina (Dehbanipour *et al.* 2019; Fleece *et al.* 2018; Rozwadowski *et al.* 2022; Sultán *et al.* 2018).

1.3.4.4 Inhibidores de la vía del folato (sulfonamidas y diaminopirimidinas)

Las sulfonamidas son fármacos empleados en el ámbito humano y veterinario desde los años 30's y su uso descontrolado ha llevado a la selección de resistencia, principalmente hacia sulfametoxazol. Posteriormente se comenzó a introducir en conjunto con las diaminopirimidinas, grupo al que pertenece el trimetoprim. Las sulfonamidas actúan inhibiendo la síntesis de la dihidropteroato sintasa (Dhps), una enzima clave en la ruta del ácido fólico y el trimetoprim actúa inhibiendo la enzima dihidrofolato reductasa (Dhfr), otra enzima importante en la síntesis de ácido fólico. La resistencia adquirida a las sulfonamidas se identificó en la década de 1960, y los genes *sul1* y *sul2* mediados por plásmidos se describieron después de la década de los 80's. Además, se ha reconocido un tercer gen *sul3* mediado por plasmido. El trimetoprim-sulfametoxazol (TXS) se ha utilizado en el tratamiento de infecciones del tracto urinario, gastrointestinal y respiratorio y, a menudo es la primera opción en pacientes ambulatorios con ITU no complicadas. Sin embargo, la resistencia codificada por plásmidos ha provocado un aumento en los últimos años a nivel mundial, principalmente en los países en desarrollo donde sigue utilizándose como un tratamiento empírico y muchas veces sin un buen control, propiciando ambientes de presión selectiva que contribuyen al incremento constante de estas tasas de resistencia. La resistencia de UPEC en países en desarrollo, la resistencia de UPEC oscila entre el 54% y el 85% (Kot, 2019; Rozwadowski *et al.* 2022; Sultán *et al.* 2018).

1.3.4.5 Tetraciclinas

Las tetraciclinas son antibióticos de amplio espectro, donde su uso generalizado tanto en animales como en humanos, ha llevado a este antibiótico a un aumento de la resistencia. La resistencia a la tetraciclina ocurre con mayor frecuencia como resultado de la adquisición de nuevos genes que codifican bombas de expulsión del tipo ABC (n= 29 genes), una proteína que protege los ribosomas bacterianos de la acción de las tetraciclinas (n = 12 genes) o inactivación enzimática (n= 3 genes) (**Tabla 9**). Muchos de estos genes están asociados con plásmidos móviles, transposones y transposones conjugativos. A menudo, estos elementos codifican su propia transferencia, lo que puede influir en su distribución entre cepas UPEC. Las mutaciones

derivadas de laboratorio en el gen *tet(A)* y *tet(B)* han llevado a la resistencia a la glicilciclina, lo que sugiere que la resistencia bacteriana debida a mutaciones en las bombas de eflujo de tetraciclina puede desarrollarse con el tiempo y con el uso clínico de la glicilciclina. Las mutaciones, que alteran la permeabilidad de las porinas de la membrana externa y/o los lipopolisacáridos en la membrana externa, también pueden afectar la resistencia del huésped bacteriano a la tetraciclina (Roberts *et al.* 2017; Rozwadowski *et al.* 2022).

Tabla 9. Mecanismo de resistencia a tetraciclina, para los genes *tet* y *otr* (Tomada de Roberts *et al.* 2017).

| Bombas de flujo | Protección ribosomal | Inactivación enzimática ^b |
|---|---|--------------------------------------|
| <i>tet(A)</i> , <i>tet(B)</i> , <i>tet(C)</i> , <i>tet(D)</i> , <i>tet(E)</i> | <i>tet(M)</i> , <i>tet(O)</i> , <i>tet(S)</i> , <i>tet(W)</i> , <i>tet(32)</i> | <i>tet(X)</i> |
| <i>tet(G)</i> , <i>tet(H)</i> , <i>tet(J)</i> , <i>tet(V)</i> , <i>tet(Y)</i> | <i>tet(Q)</i> , <i>tet(T)</i> , <i>tet(36)</i> | <i>tet(34)</i> |
| <i>tet(Z)</i> , <i>tet(30)</i> , <i>tet(31)</i> , <i>tet(33)</i> | <i>otr(A)</i> , <i>tetB(P)</i> ^a , <i>tet</i> ^c | <i>tet(37)</i> |
| <i>tet(35)</i> ^d | <i>tet(44)</i> | |
| <i>tet(39)</i> , <i>tet(41)</i> | | |
| <i>tet(K)</i> , <i>tet(L)</i> , <i>tet(38)</i> , <i>tet(45)</i> | | |
| <i>tetA(P)</i> , <i>tet(40)</i> | | |
| <i>otr(B)</i> , <i>otr(C)</i> | | |
| <i>tcr3</i> | | |
| <i>tet(42)</i> | | |
| <i>tet(43)</i> | | |
| <i>tetAB(46)</i> ^d | | |

a *tetB(P)* no se encuentra solo y *tetA(P)* y *tetB(P)* se cuentan como un solo operón.

b *tet(X)* y *tet(37)* no están relacionados, pero ambos son oxidorreductasas que requieren NADP: *tet(34)* es similar a los genes de la xantina-guanina fosforibosil transferasa de *V. cholerae*.

c *tet* no está relacionado con otros genes de eflujo.

d Representa dos genes diferentes que son necesarios para la resistencia.

1.3.4.6 Cloranfenicol

El cloranfenicol es un antibiótico de amplio espectro que se había abandonado parcialmente en los países desarrollados porque su administración sistémica se asocia con anemia aplásica. El cloranfenicol y su derivado fluorado florfenicol representan inhibidores de la biosíntesis de proteínas bacterianas, uniéndose a la subunidad 50S de los ribosomas bacterianos, inhibiendo la formación de enlaces peptídicos. Como consecuencia del uso de este fármaco en medicina humana y veterinaria, patógenos bacterianos de diversas especies y géneros han desarrollado y/o adquirido resistencia. Pueden ocurrir varios mecanismos responsables de la resistencia al cloranfenicol como la inactivación enzimática a través de la acetilación mediada por cloranfenicol acetiltransferasas (CAT) o la inactivación por fosfotransferasas, la mutación del sitio objetivo, las barreras de permeabilidad y las bombas de eflujo AcrAB-TolC en *E. coli*. El gen *catA1*

(*catI*) transmitido por Tn9 se ha reportado en múltiples géneros de bacterias Gram negativas. Además de las ubicaciones cromosómicas, el gen *catA1* a menudo se detecta en plásmidos grandes que portan genes de resistencia adicionales ([Drago et al. 2019](#); [Roberts et al. 2017](#)).

Antecedentes

2.1 Antecedentes generales

2.1.1 Antecedentes internacionales

El grupo estadounidense de **Krieger y cols en 2016** determinó FV asociados a la prostatitis bacteriana aguda en 18 aislados UPEC de pacientes varones sanos de 17 a 40 años con este padecimiento. El 72% (13/18) pertenecieron al filogrupo B2 y el 27% (5/18) al D. Las secuencias tipo más prevalentes fueron ST127 (28%), ST80, ST95 y ST394 (11%, respectivamente), este último asociado a cepas EAEC. Los FV más prevalentes fueron la adhesina pili tipo 1 *fimH* 100%, yersiniabactina *fyuA* (94%), antígeno K *kpsMT II* (83%), pilus tipo P *pap*, PAI *malX* (78%, respectivamente), colibactina *clb*, hemolisina *hlyA*, supervivencia al suero *traT* (72%, respectivamente) y fimbrias S y F1C *sfa/focDE*, factor necrotizante citotóxico *cnf-1*, salmoquelina *iroN* (61%, respectivamente). Estos hallazgos indican que el trasfondo filogenético y el contenido genético asociado a la virulencia de estos aislados coinciden con los reportados para UPEC ([Krieger et al. 2016](#)).

Lara y cols en 2017 (Brasil) reportan que debido a la capacidad de *E. coli* para expresar distintos fenotipos en respuesta a las condiciones ambientales, han aparecido esporádicamente cepas híbridas de *E. coli* enteroagregativa/uropatógena (EAEC/UPEC) ocasionando brotes de infecciones extraintestinales. En este estudio se evaluaron 258 cepas de *E. coli* de 79 casos de ITU, donde el 70% de estas cepas presentaron genes asociados a la captación del hierro (*chuA*, 85%) y receptores del sideróforo Yersiniabactina (*fyuA*, 78%) propios de UPEC y genes característicos de EAEC tales como *aatA* y *aggR*, los cuales se reportaron en un 3.4% (9/258) de estas cepas híbridas. En conclusión existen cepas de *E. coli* de filogrupos A y D que combinan genes de EAEC (*aatA* y *aggR*) con genes de UPEC (*chuA*, *fyuA* y *pap*) lo que promueve la emergencia de cepas híbridas EAEC/UPEC ([Lara et al. 2017](#)).

En el estudio llevado a cabo en España por **Smithson y cols en 2019** incluyeron un total de n= 552 varones diagnosticados con ITU febril (FUTI), donde el 60% eran pacientes mayores (>65 años) y el 40% restante, pacientes no mayores (<65 años). Los pacientes mayores

presentaron una mayor frecuencia ($p < 0.001$) de demencia, diabetes mellitus, insuficiencia renal crónica y tenían menos síntomas del tracto urinario inferior. De entre los 8 antibióticos probados, se reporta una alta tasa de resistencia antibiótica en cepas UPEC para ambos grupos a Amoxicilina 69% y Fluoroquinolonas 39%. Cabe mencionar que dada la afectación prostática en varones con ITU es común que las Fluoroquinolonas sean consideradas la primera opción terapéutica debido a su alto grado de penetración prostática. Además, de que las cepas de *E. coli* son el patógeno predominante (71%) en pacientes mayores y no mayores, seguido de *K. pneumoniae* 10% y *P. aeruginosa* 5%, por lo que *E. coli* sigue siendo el uropatógeno causal más común de ITU (Smithson et al. 2019).

Baldiris-Ávila y cols, 2020 en Colombia trabajan con 190 aislamientos urinarios de pacientes adultos no hospitalizados cursando ITU. Los grupos filogenéticos más predominantes son B2 (48%), seguido de los grupos D (24%) y A (11%). La prevalencia de los factores de virulencia es la siguiente: yersiniabactina *fyuA* (81%), adhesina pili tipo 1 *fimH* (97%), aerobactina *iutA* (75%), proteína de membrana externa *ompT* (67%), antígeno K *kpsMTII* (67%), supervivencia sérica *traT* (59%), subunidades pilus tipo P *papAH* (26%) y proteína específica uropatógena *usp* (3%). El gen *usp* solo se evidencia en el filogrupo D y F. Los aislados UPEC mostraron un patrón de virulencia similar asociado a cinco genes de virulencia: *fyuA*, *fimH*, *kpsMTII*, *iutA* y *ompT*. Teniendo en cuenta que los genes de virulencia *fyuA*, *fimH* e *iutA* se presentaron en más del 70% de las cepas analizadas, se sugieren como genes predictores moleculares de cepas UPEC (Baldiris-Ávila et al. 2020).

Brons y cols, 2020 en Alemania proponen un método de PCR para la identificación rápida de cepas UPEC basado en tres marcadores genéticos; *c3509*, *c3686*, *chuA* y para corroborar que los aislados pertenecen a la especie de *E. coli*, se incluye el marcador molecular *uidA*. Este método se valida en 128 cepas clínicas de mujeres con ITU de entre 18 – 89 años. EL filogrupo más predominante es el B2 (48%), seguido del grupo A (22%) y D (12%). Todos los aislados pertenecientes a los filogrupos B1 (10%) y B2 (48%) poseen el gen *c3509*. El gen *c3686* se presenta en la mayoría de los grupos filogenéticos. *chuA* se presenta en A, B2 y F. La presencia de cualquiera de los tres genes marcadores en una muestra dada se toma como criterio para la identificación de UPEC. De esta manera, el 95% (121/128) de los aislados se reportan como UPEC y el 5% restante

no muestra amplicones para ninguno de los tres genes y además pertenecen al filogrupo A (asociado principalmente a cepas comensales) (Brons *et al.* 2020).

2.1.2 Antecedentes nacionales

El grupo de **Miranda-Estrada y cols en 2016** analizan 107 aislados de *E. coli* en dos localidades de México; zona centro y suroeste del país (n=50 y n=57, respectivamente). De los siete grupos filogenéticos determinados; A, B1, B2, C, D, E, F y clado1, los grupos más predominantes en ambas localidades son B2 (42%), seguido de A (26%) y B1 (12%). Además, de los seis genes de virulencia determinados, en ambas localidades, los genes más prevalentes son la adhesina del pili tipi 1 *fimH* (72%), aerobactina *iutA* (54%), y la toxina secretada autotransportadora *sat* 26%. El patrón de adherencia observado es de tipo agregativo, propio del patotipo de EAEC. Es posible que algunos aislamientos de EAEC causen ITU, por lo que sería importante determinar características de virulencia de patotipos diarreogénicos en cepas UPEC (Miranda-Estrada *et al.* 2016).

El equipo de **Paniagua-Contreras y cols en 2017** trabajan con 194 cepas de UPEC aislados de pacientes con ITU de la Unidad Médica Familiar de Salud Pública localizada en el Estado de México. Los genotipos más usuales son la proteína específica uropatógena *usp* (68%), adhesina no hemaglutinante *iha* (65%), antígeno K *kpsMT* (61%), fimbrias tipo 1 *fim* (58%), yersiniabactina *irp2* (48%), subunidad del pilus tipo P *papC* (34%), enterotoxina 1 de *Shigella set* (31%), y toxina enteroagregante termoestable *astA* (31%). Los genes de resistencia frecuentemente detectados son tetraciclina *tet(A)* (34%), sulfonamidas *sul1* (31%), y β -lactámicos TEM I y II (26%). Estos resultados indican la participación colectiva de distintos factores de virulencia y de resistencia, que sugieren su posible participación en la patogénesis en una ITU (Paniagua-Contreras *et al.* 2017).

Ramírez-Castillo y cols en 2018 (Aguascalientes, México) caracterizan 110 muestras de *E. coli*, 86 aisladas de mujeres y 24 de varones con ITU, desde neonatos hasta pacientes con 91 años. Los grupos de edad más afectados por ITU, entre los varones, fueron aquellos de 0-1 (25%), >71 (21%), 2-10 (17%) y 61-70 (13%). De los siete grupos filogenéticos (A, B1, B2, C, D, E, F y Clado I), el filogrupo D (24%) y A (19%) son los más comunes. Los genes de resistencia a asociados a quinolonas *qnrA* (29%), *qnrB* (25%), *qnrS* (13%), fluoroquinolonas *aac(6')-lb-cr* (17%) y a β -

lactámicos *CTX-M* (21%), son los más distribuidos entre los aislados de varones. Los genes de virulencia más prevalentes en cepas UPEC de varones son la adhesina del pili tipo 1 *fimH* (83%), subunidad del pilus tipo P *papC* (50%), yersiniabactina *fyuA* (58%) y antígeno 43 *agn43* (58%), mientras que fimbria S *sfaS* (8%) y el factor necrotizante citotóxico *cnf-1* (4%) se reportan como los más bajos. El resto de los factores de virulencia tienen la siguiente distribución: receptor del grupo hemo/hemoglobina *chuA* (46%), proteína fimbrial *yfcV* (42%), antígeno K *kpsMTII* (38%), toxina autotransportadora vacuolizante *vat* (29%) y hemolisina *hlyA* (17%). Solo existió una diferencia significativa en la distribución de *yfcV* entre los aislados de varones y mujeres (42% y 14%, respectivamente) (Ramírez-Castillo *et al.* 2018).

Los estudios, antes descritos, muestran la alta resistencia que han experimentado las cepas UPEC a la mayoría de los antibióticos para el tratamiento de ITU, así como la presencia de genes relacionados directamente a la adhesión, captación de hierro, daño tisular y evasión de la respuesta inmune en ITUs en vías altas y bajas. Es importante recordar que las condiciones, geográficas, climáticas, el estilo de vida, el uso de antibióticos y los factores genéticos pueden hacer que la flora comensal adquiera genes de virulencia y se convierta en potencialmente patógena.

2.2 Antecedentes directos

En el laboratorio de Biología Molecular de Enteropatógenos, existen algunos estudios relacionados con el análisis de *E. coli* aislados de varones adultos y adultos mayores cursando ITU.

Molina y Roche en 2011, trabajan con 247 cepas UPEC provenientes de un laboratorio clínico particular del estado de Puebla donde el 98% de las muestras son de mujeres, de las cuales el 47% son resistencia a ampicilina, 38% a levofloxacina y un 33% a TXS, resultando el 71% de estas cepas MDR. El gen de virulencia presente en un 94% de los aislados es *fimH*, seguido de *papGII* (38%), *hlyA* (33%), *fliC* (30%) y *papGIII* con un 22%. Por último, el serotipo identificado fue O25:H4 asociado a UPEC.

En **2015 Flores** trabaja con 17 cepas de *Escherichia coli* uropatógena aisladas de pacientes mujeres con displasia cervical cursando con ITU. Se observa una mayor resistencia antibiótica a ampicilina (94%), cefalotina (79%) y TXS (60%). El grupo filogenético B2 (35%)

resulta ser el más predominante, seguido por el grupo A (24%), D (24%) y B1 (18%). Los factores asociados a virulencia predominantes son *fimH* 94%, fimbrias *ecp1* y *2* (94% y 76%), *iucD* (53%) y *sat* (53%).

García en 2017 analiza un total de 66 aislados del hospital regional del ISSSTE del Estado de Puebla tomadas en el año 2010. El 35% (23/66) son cepas de varones y el 62% (41/66) de mujeres. El rango de edad de los varones va desde 1 a 89 años. Los filogrupos más prevalentes en el cepario son el filogrupo A (33%) y B2 (32%). Los factores de virulencia encontrados con mayor frecuencia son *iucD* (100%), *fimH* (91%) y *vat* (*vatA+vatP*) (92%), y ausentes *papA+papGII* y *papA+papGIII*.

Huelgas en 2020, analiza un total de 24 aislados de varones de entre 46 y 91 años cursando ITU provenientes del hospital regional del ISSSTE de la Ciudad de Puebla correspondientes al periodo 2015 – 2016. La distribución de los filogrupos más predominantes son B2 (58%) y C (17%), y en menor medida los grupos A (9%), D, E, Clado I y el Clado no asignable con el 4%, respectivamente. Los genes de virulencia asociados a este cepario son *fimH* (92%), *iucD* (88%), *iha* y *traT* (63%, respectivamente), *kpsMT II* (58%) y *pap* (55%), en cuanto al perfil de resistencia se prueban 9 antibióticos de 10 familias diferentes, presentando una alta resistencia del 100% a quinolonas, 90% a β -lactámicos, tetraciclinas con un 83%, inhibidores de la vía de folato en 80%, aminoglucósidos 50%, fenicoles 33%, polimixinas 30% y en un 20% a nitrofuranos. Finalmente, las muestras presentaron PAI I_{CFT073} 63%, PAI II_{CFT073} 67% y PAI II_{J96} 30%.

Justificación

El principal agente etiológico asociado en un 80% a las ITU reportadas es *E. coli* uropatógena, se sabe que este tipo de enfermedades infecciosas afecta a hombres y mujeres de diferentes grupos de edad y que, de acuerdo con los informes anuales de la Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica de la Secretaría de Salud de Puebla se encuentra dentro de los primeros 10 estados con el mayor número de casos reportados por ITU, siendo esta la segunda causa de morbilidad en México. Además, el uso indiscriminado de antibióticos ha generado la aparición de bacterias multirresistentes, donde el panorama general es la gran resistencia hacia quinolonas, a TXS y a penicilinas, medicamentos que muchas guías de tratamiento siguen indicando como terapia de primera elección en ITU, por lo que las ITU por UPEC representan un problema de salud pública estatal y nacional.

De acuerdo con los antecedentes revisados en el presente trabajo de investigación, en México la mayoría de estos estudios se centran en la población femenina, siendo esta la población más afectada por las infecciones del tracto urinario. Sin embargo, pocos son los estudios que muestran las características de cepas presentes en varones cursando ITU quienes generalmente desarrollan ITU complicadas.

Por ello, el presente trabajo de investigación se centrará en determinar nuevos genes de virulencia y de resistencia a antimicrobianos en cepas UPEC en varones, con el propósito de mejorar la comprensión de la patogénesis de las ITU y al mismo tiempo generar datos relacionados con las infecciones urinarias en varones del estado de Puebla.

4

Objetivo general

Determinar la presencia de nuevos genes y clásicos de virulencia de UPEC, genes de resistencia antibiótica y específicos de *E. coli* diarreagénicas en cepas de *Escherichia coli* aisladas de varones cursando con ITU, durante los años 2015 - 2016.

5

Objetivos específicos

1. Identificar nuevos genes de virulencia en una colección de 24 cepas aisladas de ITU en varones.
2. Buscar genes de resistencia antibiótica a cuatro familias.
3. Identificar genes de DEC.
4. Buscar y seleccionar genomas completos de *E. coli* reportados en bases de datos de libre acceso.
5. Determinar la presencia de los nuevos genes: *c3509*, *c3689* y *chuA* para la identificación de UPEC en genomas ExPEC.
6. Llevar a cabo un análisis comparativo, *in silico* de genomas ExPEC, DEC y CoEC.

Diagrama de trabajo

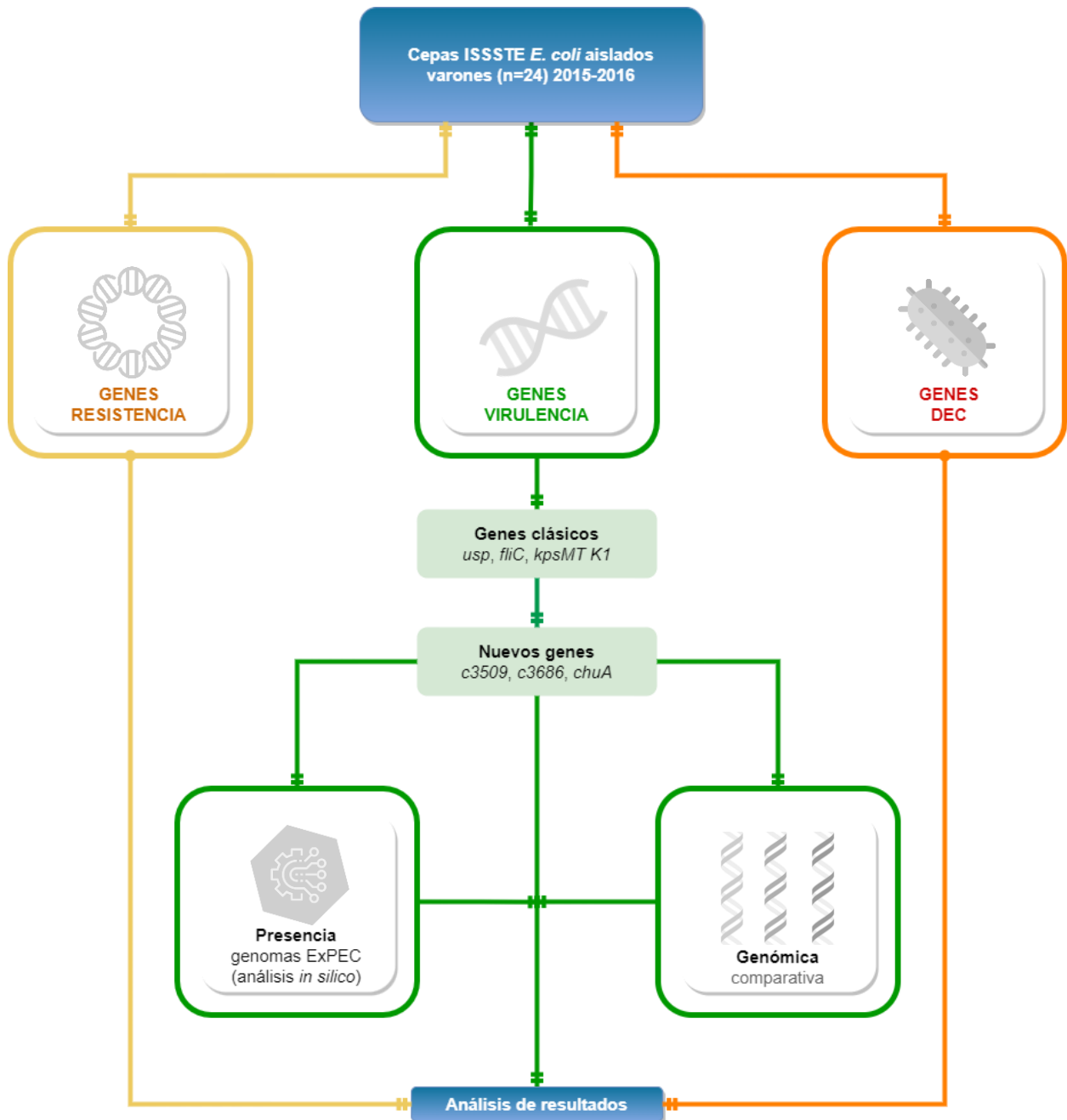


Figura 7. Esquema de trabajo. DEC: *E. coli* diarreogénica

Material y métodos

7.1 Cepas UPEC

Se analizaron un total de 24 cepas de *E. coli* uropatógena de pacientes varones cursando ITU, provenientes del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE) de la Ciudad de Puebla, correspondientes al periodo 2015-2016. La edad promedio de los pacientes fue de 71 años. El cepario fue inicialmente caracterizado en el proyecto de tesis de Daniel Huelgas Méndez. Las muestras se encuentran crioconservadas (-70 °C) en el Laboratorio de Biología Molecular de Enteropatógenos (LBME) del Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, del Instituto de Ciencias BUAP.

7.2 Material biológico

En la **Tabla 10**, se muestran las características generales del cepario de estudio determinadas por Huelgas-Méndez, 2020. De igual forma, en la **Tabla 11**, se enlistan las cepas utilizadas como controles en los ensayos realizados en el presente trabajo.

Tabla 10. Características generales del cepario de estudio (Huelgas-Méndez, 2020).

| CEPARIO VARONES | |
|---|--|
| Cepario | <ul style="list-style-type: none"> 24 cepas aisladas de varones cursando ITU. ISSSTE Ciudad de Puebla, 2015 – 2016 |
| Donadores | <ul style="list-style-type: none"> Varones adultos y de la tercera edad; Media: 71 años Rango: 46 – 91 años |
| Filogrupos (Clermont <i>et al.</i> 2013) | <ul style="list-style-type: none"> B2 (58%) C (17%) A (8%) CI/III, D y E (4%) |
| Serotipo | <ul style="list-style-type: none"> O25:H4 (42%) |
| Factores de virulencia | <ul style="list-style-type: none"> Adhesión <i>fimH</i> (92%) <i>papGII</i> (67%) <i>iha</i> (63%) Captación de hierro <i>iucD</i> (88%) Daño tisular <i>hlyA</i> (29%) <i>cnf1</i> (29%) <i>sat</i> (50%) <i>vat</i> (12%) Evasión respuesta inmune |

| | |
|--------------------------------------|---|
| | <ul style="list-style-type: none"> <i>traT</i> (63%) <i>kpsMT-II</i> (58%) |
| PAIs | <ul style="list-style-type: none"> PAI II_{CFT073} (67%) PAI I_{CFT073} (63%) PAI I_{J96} (30%) |
| Resistencia genotípica (Kirby-Bauer) | <ul style="list-style-type: none"> MDR (70%) XDR (30%) Quinolonas (100%) β-lactámicos (90%) Tetraciclinas (83%) Inhibidores de la vía del folato (80%) Aminoglucósidos (50%) Fenicoles (33%) Polimixinas (30%) Nitrofuronas (20%) Ácidos fosfónicos (4%) |
| Genes de resistencia | <ul style="list-style-type: none"> <i>bla_{CTX-M}</i> (80%) <i>bla_{OXA-1}</i> (30%) <i>bla_{TEM}</i> (4%) |
| Formación de biopelícula | <ul style="list-style-type: none"> Débil (63%) Moderada (30%) Fuerte (4%) No formadora (4%) |
| Bandas plasmídicas | <ul style="list-style-type: none"> Una, dos y tres bandas (16%) Cuatro y cinco bandas (4%) Sin bandas (40%) |

Tabla 11. Cepas control.

| CEPA | GENES QUE PORTAN | DONADO POR |
|-------------------------|--|------------|
| UPEC CFT073 | <ul style="list-style-type: none"> Genes virulencia <i>fliC, kpsMT K1, usp, focH, uidA, c3509, c3686, chuA</i> Genes resistencia <i>nfsA, nfsB, gyrA, parC</i> | LBME |
| A143EC | <ul style="list-style-type: none"> Genes resistencia <i>CTX-M1, qnrB, tet(A), aac(3')-II, catA, sul1, sul3, dfrA1</i> | LMHyC |
| C7219 | <ul style="list-style-type: none"> Genes resistencia <i>qnrA, tet(B)</i> | |
| A23EC | <ul style="list-style-type: none"> Gen resistencia <i>aac(6')-Ib-cr</i> | |
| EHEC EDL933 | <ul style="list-style-type: none"> <i>stx1</i> | LBME |
| ETEC LD102b | <ul style="list-style-type: none"> <i>LT-I</i> | |
| EPEC E2348/69 | <ul style="list-style-type: none"> <i>bfpA</i> y <i>eae</i> | |

LBME: Laboratorio de Biología Molecular de Enteropatógenos

LMHyC: Laboratorio de Microbiología Hospitalaria y de la Comunidad

7.3 Extracción de ADN bacteriano

La extracción del material genético de las cepas UPEC, se llevó a cabo mediante dos metodologías, de acuerdo a la caracterización molecular de interés; para la determinación de factores de virulencia o de resistencia.

7.3.1 Extracción de ADN genómico por lisis alcalina

Se inocularon 80 μ L de la muestra problema en un tubo de ensayo con 3 mL de LB. Se dejó incubando en agitación (200 rpm) a 37 °C, durante toda la noche (pre-cultivo). Posteriormente se inocularon 80 μ L del pre-cultivo en 5 ml de medio líquido LB, hasta obtener una DO_{260nm} de 0.4 a 0.5. Se obtuvieron paquetes celulares de 500 μ L en un tubo Eppendorf para la extracción genómica acorde a los protocolos establecidos en el manual Molecular Cloning (Sambrook, 2012).

7.3.2 Extracción de ADN total por el método de caldo hervido

Para la extracción del templado de ADN total se utilizó el método de extracción por hervido. A partir de un cultivo puro incubado por 24 h en caldo LB, se empaquetaron 3 ml del cultivo en un tubo Eppendorf estéril a 13,000 rpm durante 5 min. Se decantó el sobrenadante *cuidando* de no perder la pastilla; se agregaron 600 μ L de agua destilada y *resuspendió* la pastilla. Posteriormente se colocó el tubo en baño maría a temperatura de ebullición durante 15 min., después los tubos Eppendorf se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se centrifugaron a 13,000 rpm durante 15 min posteriormente se recuperó el sobrenadante (que contiene el ADN total) en nuevos tubos estériles *cuidando* de no llevarse restos de la pastilla.

7.4 Determinación de genes de virulencia

Para la detección de los genes de virulencia, clásicos y nuevos, se utilizó como templado DNA genómico. Se llevaron a cabo 8 PCR's individuales de los genes enlistados en la **Tabla 12**. Los productos fueron separados en geles de agarosa al 1%.

Tabla 12. Genes identificados por PCR individual para los FV.

| GEN | CODIFICA | PRIMERS (5' – 3') | TAMAÑO (pb) | CONDICIONES AMPLIFICACIÓN | REFERENCIA |
|-----------------|---------------------------------|--|-------------|---|---|
| <i>uidA</i> | β-glucoronidasa | uidA-F: GCA TTC AGT CTG GAT CGC GAA A uidA-R: CTT CGC TGT ACA GTT CTT TCG G | 1,075 | 95°C 5 min 94°C 30 s 57.7°C 30 s 72°C 1 min 30 ciclos 72°C 7 min | Kiel <i>et al.</i> 2018 |
| <i>usp</i> | Proteína específica uropatógena | uspF: GCT TTC ACC AGG AAC TCG CTG G uspR: TTA TCT CCT GTA GTG AAT TTC ATC ATG | 379 | 94 °C 5 min 94 °C 1 min 59 °C 30 s 72 °C 40 s 30 ciclos 72 °C 10 min | Lai <i>et al.</i> 2016 |
| <i>fliC</i> | Flagelina | fliCF: CAG AGA CAG AAC CTG CTG CGG TAC fliCR: TGA AGT ATA TGT TAG TGC | 328 | 94 °C 5 min 94 °C 1 min 65.7 °C 30 s 72 °C 40 s 30 ciclos 72 °C 10 min | Huelgas-Méndez 2020 |
| <i>kpsMT K1</i> | Cápsula K1 | KI-F: TAG CAA ACG TTC TAT TGG TGC kpsII-R: CAT CCA GAC GAT AAG CAT GAG CA | 153 | 95 °C 3 min 95 °C 30 s 55 °C 30 s 72 °C 40 s 30 ciclos 72 °C 10 min | Johnson <i>et al.</i> 2000 |
| <i>c3509</i> | Dominio de unión a nucleótidos | c3509-F: ACA ATC CGC CAC CAT CCA G c3509-R: CTC TCC ACC GGA GAG TGT T | 208 | 94 °C 5 min 94 °C 1 min 60 °C 1 min 72 °C 1 min 30 ciclos 72 °C 10 min | Brons <i>et al.</i> 2020 |
| <i>c3686</i> | Biosíntesis capsular | c3686-F: TTG CAC CAA CAA CGT CTA CC c3686-R: TCT GCG TCT TCT ACC ATC AC | 259 | 94 °C 5 min 94 °C 1 min 55 °C 1 min 72 °C 1 min 30 ciclos 72 °C 10 min | Brons <i>et al.</i> 2020 |
| <i>chuA</i> | Receptor grupo hemo/hemoglobina | chuA-F: GCT ACC GCG ATA ACT GTC AT chuA 1bc: ATG GTA CCG GAC GAA CCA AC | 959 | 94 °C 5 min 94 °C 1 min 55 °C 1 min 72 °C 1.3 min 30 ciclos 72 °C 10 min | Brons <i>et al.</i> 2020 Clermont <i>et al.</i> 2013 |
| <i>focH</i> | Adhesina fimbria F1C | focH-F: GTG CCG TAA GCA AAG GTA focH-R: CAG TAA TAT CAT TAC CGC CAC | 1,065 | 95 °C 3 min 95 °C 20 s 55 °C 30 s 72 °C 30 s 30 ciclos 72 °C 5 min | Erick |

7.5 Determinación de genes de resistencia

Para identificar las cepas portadoras de genes de resistencia a β-lactámicos, quinolonas, aminoglucósidos, tetraciclinas y fenicoles, se utilizó como templado el DNA total. Los oligonucleótidos utilizados fueron compartidos por el Laboratorio de Microbiología Hospitalaria y de la Comunidad (LMHyC), excepto *nfsA* y *nfsB*. Los genes caracterizados se muestran en la

Tabla 13.

Tabla 13. Genes de resistencia caracterizados por PCR individual.

| GEN DE RESISTENCIA | CONFIERE RESISTENCIA | PRIMERS (5' – 3') | TAMAÑO (pb) | CONDICIONES AMPLIFICACIÓN | REFERENCIA |
|-----------------------------|----------------------|---|-------------|--|------------|
| <i>nfsA</i> | Nitrofurantoina | nfsA-F: ACA CAA TAC AGT GAA AAG TTT nfsA-R: TTA CAC GAA TAG AGC GTT CCA TC | 1, 150 | 95 °C 3 min 95 °C 30 s 55 °C 30 s 72 °C 40 s 30 ciclos 72 °C 10 min | LBME |
| <i>nfsB</i> | Nitrofurantoina | nfsB-F: TCT GGT GGT TGA TGG TCT GG nfsB-R: CGT CTC CTT TAT ACA ACA GC | 907 | 95 °C 3 min 95 °C 20 s 55 °C 30 s 72 °C 30 s 30 ciclos 72 °C 5 min | LBME |
| <i>bla_{CTX-M1}</i> | β-lactámicos | CTX-M13U: GGT TAA AAA ATC ACT GCG YC CTX-M13D: TTG GTG ACG ATT TTA GCC GC | 843 | 94 °C 7 min 94 °C 50 s 53 °C 40 s 72 °C 1 min 35 ciclos 72 °C 5 min | LMHyC |
| <i>qnrA</i> | Fluoroquinolonas | qnrA-F: AGA GGA TTT CTC ACG CCA GG qnrA-R: TGC CAG GCA CAG ATC TTG AC | 580 | 95 °C 5 min 95 °C 1 min 55 °C 1 min 72 °C 1 min 40 ciclos 72 °C 7 min | LMHyC |
| <i>qnrB</i> | Fluoroquinolonas | qnrB-F: GGM ATH GAA ATT CGC CAC TG qnrB-R: TTT GCY GYY CGC CAG TCG AA | 264 | 95 °C 5 min 95 °C 1 min 56 °C 1 min 72 °C 1 min 35 ciclos 72 °C 7 min | LMHyC |
| <i>aac(6)-Ib-cr</i> | Fluoroquinolonas | aac(6)-Ib-F: TTG CGA TGC TCT ATG AGT GGCTA aac(6)-Ib-R: CTC GAA TGC CTG GCG TGT TT | 482 | 94 °C 5 min 94 °C 45 s 60 °C 45 s 72 °C 45 s 20 ciclos 72 °C 5 min | LMHyC |
| <i>aac(3)-II</i> | Aminoglucósido | aac(3)-II-F: ACT GTG ATG GGA TAC GCG TC aac(3)-II-R: CTC CGT CAG CGT TTC AGC TA | 237 | 94 °C 5 min 94 °C 30 s 60 °C 45 s 72 °C 2 min 32 ciclos 72 °C 8 min | LMHyC |
| <i>tet(A)</i> | Tetraciclina | tetA1-F: GTA ATT CTG AGC ACT GTC GC tetA1-R: CTG CCT GGA CAA CAT TGC TT | 937 | 95 °C 5 min 95 °C 30 s 62 °C 30 s 72 °C 45 s 23 ciclos 72 °C 7 min | LMHyC |
| <i>tet(B)</i> | Tetraciclina | tetB-F: TTG GTT AGG GGC AAG TTT TG tetB-R: GTA ATG GGC CAA TAA CAC CG | 659 | 94 °C 5 min 94 °C 30 s 52 °C 30 s 72 °C 1 min 35 ciclos 72 °C 5 min | LMHyC |
| <i>sul1</i> | Sulfonamidas | sul1-F: TGG TGA CGG TGT TCG GCA TTC sul1-R: GCG AGG GTT TCC GAG AAG GTG | 790 | 94 °C 5 min 94 °C 30 s 62 °C 30 s 72 °C 1 min 30 ciclos 72 °C 8 min | LMHyC |
| <i>sul3</i> | Sulfonamidas | sul3-F: GAG CAA GAT TTT TGG AAT CG sul3-R: CATCTGCAGCTAACCTAGGGCTTTGGA | 788 | 94 °C 5 min 94 °C 1 min 51 °C 1 min 72 °C 1 min 30 ciclos 72 °C 5 min | LMHyC |

| | | | | | |
|--------------|--------------------------------|---|-----|---|-------|
| <i>catA1</i> | Cloranfenicol | catA-F: CAC TGG ATA TAC CAC CGT TG catA-R: CAC TCA TCG CAG TAC TGT TG | 630 | 94 °C 5 min 94 °C 1 min 64 °C 30 s 72 °C 45 s 30 ciclos 72 ° 10 min | LMHyC |
| <i>dfrA1</i> | Trimetoprim/Sulfameto xazol | dfrA1-F: GAR CAG CTM CTB TTT AAA GC dfrA1-R: TTA ACC CTT TTK CCA RAT TTG | 393 | 94 °C 5 min 94 °C 1 min 52 °C 1 min 72 °C 30 s 30 ciclos 72 ° 10 min | LMHyC |

LBME: Laboratorio de Biología Molecular de Enteropatógenos

LMHyC: Laboratorio de Microbiología Hospitalaria y de la Comunidad.

7.6 Determinación de cepas híbridas

Los genes enlistados en la **Tabla 14**, fueron determinados para la identificación de las cepas con genotipo híbrido.

Tabla 14. Genes DEC utilizados para la identificación de cepas híbridas.

| GEN DE VIRULENCIA | CODIFICA | PRIMERS (5' – 3') | TAMAÑO (pb) | CONDICIONES AMPLIFICACIÓN | REFERENCIA |
|-------------------|----------------------|---|-------------|---|------------|
| <i>LT-I</i> | Toxina termolábil | LT-F: GGC GAC AGA TTA TAC CGT GC LT-R: CCG AAT TCT GTT ATA ATA TGT C | 750 | 94 °C 5 min 94 °C 30 s 60 °C 30 s 72 °C 1 s 30 ciclos 72 ° 8 min | LMHyC |
| <i>bfpA</i> | Formador de mechones | bfpA-F: AAT GGT GCT TGC GCT TGC TGC bfpA-R: GCC GCT TTA TCC AAC CTG GTA | 326 | 94 °C 5 min 94 °C 1 min 67 °C 1 min 72 °C 40 s 30 ciclos 72 ° 10 min | LMHyC |
| <i>eae</i> | Intimina | eae-F: CAG GTC GTC GTG TCT GCT AAA eae-R: TCA GCG TGG TTG GAT CAA CCT | 924 | 95 °C 3 min 95 °C 20 s 67 °C 1 min 72 °C 30 s 30 ciclos 72 ° 5 min | LMHyC |
| <i>stx1</i> | Toxina shiga | STX1-F: ATA AAT CGC CAT TCG TTG ACT AC STX1-R: CAC ATA TAA ATT ATT TCG CTC | 227 | 94 °C 5 min 94 °C 1 min 55 °C 1 min 72 °C 40 s 30 ciclos 72 ° 10 min | LMHyC |

LMHyC: Laboratorio de Microbiología Hospitalaria y de la Comunidad.

7.7 Estadística

El análisis de los datos se llevó a cabo con Statistical Package for Social Sciences (SPSS—IBM Corp., Nueva York, EE. UU.), versión 27 para Windows. Se utilizó la prueba Chi-cuadrada de Pearson o exacta de Fisher para evaluar la relación entre las variables. Se consideró significativo un valor de $p < 0.05$. Los heat map asociados a los genes de virulencia y de resistencia se generaron utilizando el software GraphPad Prism 8.0.1. Los dendogramas fueron elaborados con el programa informático PAST v4.11 con el método de Ward's.

7.8 Sección de análisis bioinformático

7.8.1 Análisis *in silico*

Debido a la actual contingencia sanitaria que cursamos por SARS-CoV-2, se optó por adicionar al esquema de trabajo el análisis *in silico*, para determinar si los genes propuestos por Brons y cols, 2020 pueden ser utilizados como marcadores moleculares de UPEC, buscando su presencia en genomas completos de CoEC, DEC y ExPEC depositados en la base de datos del GenBank. Adicionalmente, por genómica comparativa proponer un posible esquema de identificación para UPEC.

7.8.2 Búsqueda de genomas CoEC, DEC y ExPEC

Con el propósito de profundizar el estudio de Brons y cols, 2020, se realizó la búsqueda de genomas CoEC, DEC y ExPEC en la base de datos de libre acceso de la National Center Biotechnology Information (NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/browse/#!/prokaryotes/167/>) y en la base pública European Nucleotide Archive (ENA, <https://www.ebi.ac.uk/ena/browser/>), utilizando la información disponible en la sección *BioSample*, *BioProject* y filtros de búsqueda propios de cada base de datos para obtener el genoma de cepas patógenas y comensales humanas.

Como criterios de inclusión se seleccionaron genomas completos, con acceso disponible en GenBank y SnapGene Viewer 5.2, con fecha de corte a mayo 2022 y de exclusión genomas incompletos. La máxima selección se basó según la información del bioproyecto y biomuestra, ya que en la mayoría de los genomas la información es limitada y es en ambas secciones donde se describe el tipo de patotipo al que pertenecen los genomas.

7.8.3 Genómica comparativa genomas de *E. coli*

Para el análisis de genómica comparativa, se obtuvieron los genes de los genomas de *E. coli* de la página de NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/browse/#!/prokaryotes/167/>), colocando en el buscador el IDGenBank del genoma y, en el apartado *Replicon Info* se accedió a la sección *Protein*. Adicionalmente, se determinaron los genes ortólogos de los genomas UPEC y los controles en la página de eggNOG-mapper (<http://eggno-mapper.embl.de/>), seleccionando el tipo de archivo e ingresando el genoma correspondiente en formato FASTA. Posteriormente,

los genomas fueron analizados por InteractiVenn (<http://www.interactivenn.net/>) y *Bioinformatics & Evolutionary Genomics* (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>).

7.8.4 Esquema de identificación de cepas UPEC

Para la propuesta del esquema de identificación, los genes de los genomas obtenidos por NCBI y ENA se recopilaron en una base de datos de Microsoft® Excel 2019 v.2210 y fueron visualizados y analizados con el software Tableau Desktop, seleccionando aquellos genes que solo se encontraran en genomas UPEC.

7.8.5 Herramientas bioinformáticas

eggNOG-mapper. Es una base de datos de grupos ortólogos (OG) de organismos bacterianos, arqueales y eucariotas, que utiliza las filogenias precalculadas inferidas para cada OG y asignar de manera eficiente la ortología (<http://eggnog-mapper.embl.de/>).

InteractiVenn. Herramienta en línea para el análisis de conjuntos a través de diagramas de Venn (<http://www.interactivenn.net/>).

Bioinformatics & Evolutionary Genomics. Es una herramienta que calcula la(s) intersección(es) de una lista de elementos, generando una salida textual, indicando qué elementos están en cada intersección o son exclusivos de una determinada lista. Si el número de listas es inferior a 7, también producirá una salida gráfica en forma de diagrama de Venn/Euler (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>).

Tableau Desktop. Es una plataforma de visualización de datos.

Resultados

8.1 Sección de análisis experimental

8.1.1 Descripción poblacional

Durante el periodo 2015-2016, se aislaron 24 cepas de pacientes varones que cursaban una ITU, provenientes del hospital regional del ISSSTE de la ciudad de Puebla. La edad media de los pacientes fue de 71 años con un rango de 46 – 91 años. El 63% de los varones se agruparon en 65 años y más, seguido del grupo de edad de 50 – 59 años (13%), 45 – 49 y 60 – 64 años (8%) y para 2 pacientes no se tuvo registro de sus edades (**Figura 8**).

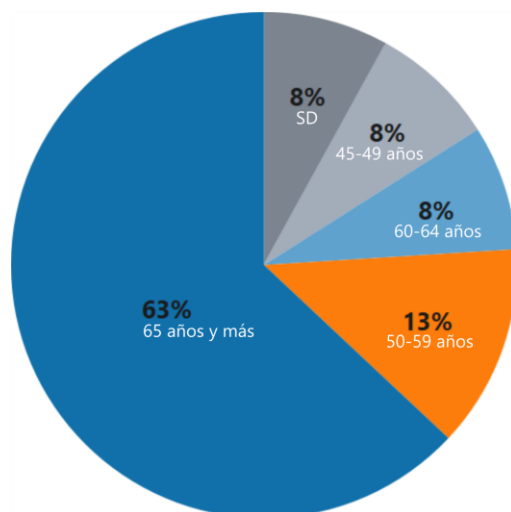


Figura 8. Distribución de la población de estudio de acuerdo al grupo de edad (n=24). El criterio de agrupación se hizo de acuerdo al publicado por el SINAVE. SD: sin datos

8.1.2 Genes clásicos y nuevos de virulencia

La determinación de los genes clásicos como nuevos se llevó a cabo mediante PCR individual, previamente estandarizada en el grupo de trabajo. Como genes clásicos se determinó la proteína específica uropatógena (*usp*), flagelina (*fliC*), sistema de transporte capsular tipo ABC (*kpsMT K1*) y la adhesina de las fimbrias F1C (*focH*). Como nuevos genes de virulencia el *c3509* que codifica un dominio de unión a nucleótidos, *c3686* arabinosa-fosfato-isomerasa (API) y el receptor del grupo hemo/hemoglobina *chuA*. Para la confirmación de la especie de *E. coli* en el cepario de varones se determinó el marcador molecular *uidA* (β -glucuronidasa). En la **Figura 9** se presenta el gel representativo de los genes asociados a la virulencia.

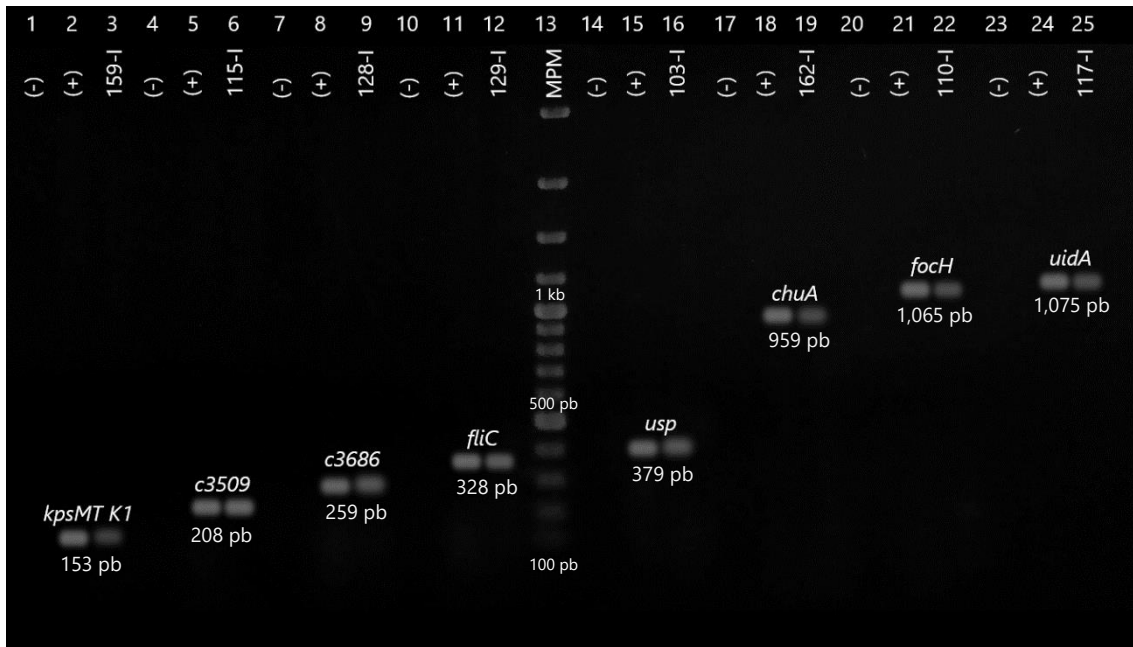


Figura 9. Determinación de genes clásicos y nuevos de virulencia, y confirmación de la especie de *E. coli*. Imagen de la electroforesis en gel de agarosa al 1%. **Carriles 1, 4, 7, 10, 14, 17, 20, 23;** (-) control negativo. **Carriles 2, 5, 8, 11, 15, 18, 21, 24;** (+) control positivo, CFT073 genómico. **Carriles 3, 6, 9, 12, 16, 19, 22;** genes de virulencia, clásicos y nuevos amplificados *kpsMT K1* (153 pb), *c3509* (208 pb), *c3686* (259 pb), *fliC* (328 pb), *usp* (379 pb), *chuA* (959 pb), *focH* (1,065 pb), respectivamente. En carril 25, gen de confirmación *uidA* (1,075 pb). **Carril 13;** MPM, marcador de peso molecular GeneRuler™ 100 pb Plus DNA Ladder.

El gen marcador *uidA* se presentó en el 100% de las cepas, identificando al cepario como perteneciente a la especie de *E. coli*. Los nuevos genes de virulencia, *c3509* y *chuA* se presentaron en 17 cepas (71%) y el *c3686* en 15 cepas (63%). La prevalencia de los genes clásicos fue la siguiente: *kpsMT K1* (92%), *fliC* (67%), *usp* (63%) y *focH* (21%) (**Figura 10**).

De acuerdo con la **Tabla 15**, los nuevos genes de virulencia predominaron en los grupos filogenéticos B2, E, D y Clado I. Además, se encontró que el 79% (19/24) del cepario de varones pertenecían a cepas UPEC con base en el criterio de la presencia de cualquiera de los tres genes marcadores genéticos buscados. Las cinco muestras restantes (21%) que no amplificaron ninguno de los tres genes diana, formaban parte del grupo filogenético no asignable, C y A. Este último relacionado principalmente con cepas comensales, ver **ANEXO 1**.

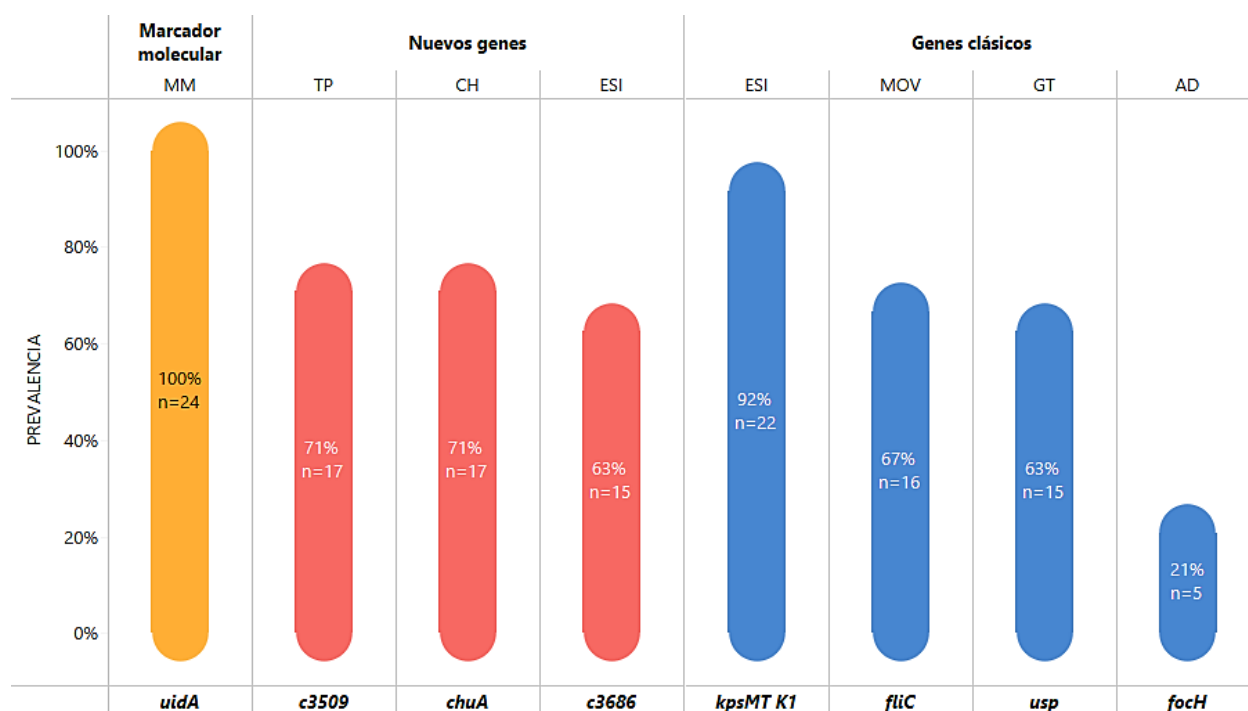


Figura 10. Genes clásicos y nuevos de virulencia presentes en el cepario de varones con ITU (n=24). Barra anaranjada, biomarcador molecular. Barras rojas, nuevos genes. Barras azules, genes clásicos. **BM:** biomarcador molecular; **TP:** transporte; **CH:** captación de hierro; **ESI:** evasión sistema inmune; **MOV:** movilidad; **GT:** genotoxina; **AD:** Adhesión.

Tabla 15. Distribución de los nuevos genes de virulencia e identificación de cepas UPEC.

| Filogrupo | n=24 | Nuevos genes | | | | | Combinación de genes presentes |
|--------------|-------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------------|--------------------------------|
| | | BM | | | | | Específicos de UPEC |
| | | <i>uidA</i> | <i>c3509</i> | <i>c3686</i> | <i>chuA</i> | <i>c3509-c3686-chuA*</i> | |
| B2 | 58% (14/24) | 100% (14/14) | 93% (13/14) | 79% (11/14) | 100% (14/14) | 100% (14/14) | |
| C | 17% (4/24) | 100% (4/4) | 25% (1/4) | 0% (0/4) | 0% (0/4) | 25% (1/4) | |
| E | 4% (1/24) | 100% (1/1) | 0% (0/1) | 100% (1/1) | 100% (1/1) | 100% (1/1) | |
| No asignable | 4% (1/24) | 100% (1/1) | 0% (0/1) | 0% (0/1) | 0% (0/1) | 0% (0/1) | |
| D | 4% (1/24) | 100% (1/1) | 100% (1/1) | 100% (1/1) | 100% (1/1) | 100% (1/1) | |
| Clado I | 4% (1/24) | 100% (1/1) | 100% (1/1) | 100% (1/1) | 100% (1/1) | 100% (1/1) | |
| A | 8% (2/24) | 100% (2/2) | 50% (1/2) | 50% (1/2) | 0% (0/2) | 50% (1/2) | |
| Total | | 100% (24/24) | 71% (17/24) | 63% (15/24) | 71% (17/24) | 79% (19/24) | |

BM: biomarcador molecular.

* Al menos uno de estos genes debe estar presente.

Con la finalidad de encontrar una asociación entre los diferentes de virulencia analizados se aplicó la prueba exacta de Fisher y se elaboró un Heatmap. Se encontró que el gen *usp* mostró una fuerte asociación ($p < 0.001$) con los genes *c3509*, *c3686* y con *chuA* ($p < 0.01$), y entre estos tres últimos ($p < 0.01$). Los genes *focH*, *kpsMT K1* y *fliC* no presentaron ninguna asociación con los genes clásicos y nuevos de virulencia (**Figura 11**).

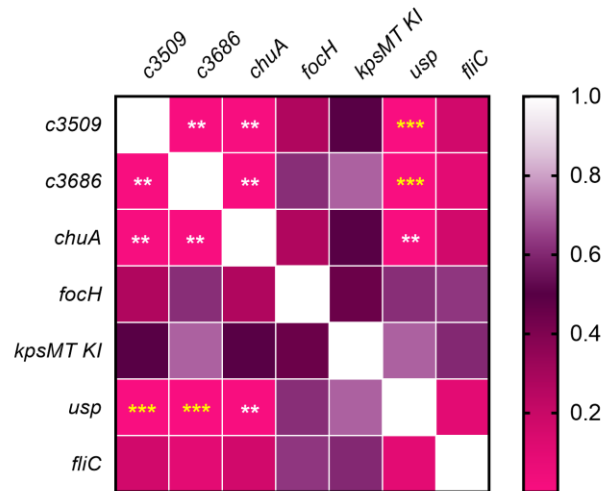


Figura 11. Heatmap generado según la asociación estadística entre los genes nuevo y clásicos de virulencia. Los valores estadísticamente significativos se indican como sigue: *** $p < 0,001$ y ** $p < 0,01$.

En la **Figura 12** se presentan todos los genes de virulencia caracterizados hasta el momento en el cepario de varones. Los genes clásicos más predominantes con un 92% (22/24) fueron *fimH*, *kpsMT K1* y con 88% (21/24) *iucD*, seguido de *papGII* y *fliC* 67% (16/24), *iha*, *traT*, y *usp* 63% (15/24). Los genes con menor prevalencia en el cepario fueron *focH* (21%), *hlyA* (29%), *cnf-1* (29%) y *vat* (12%).

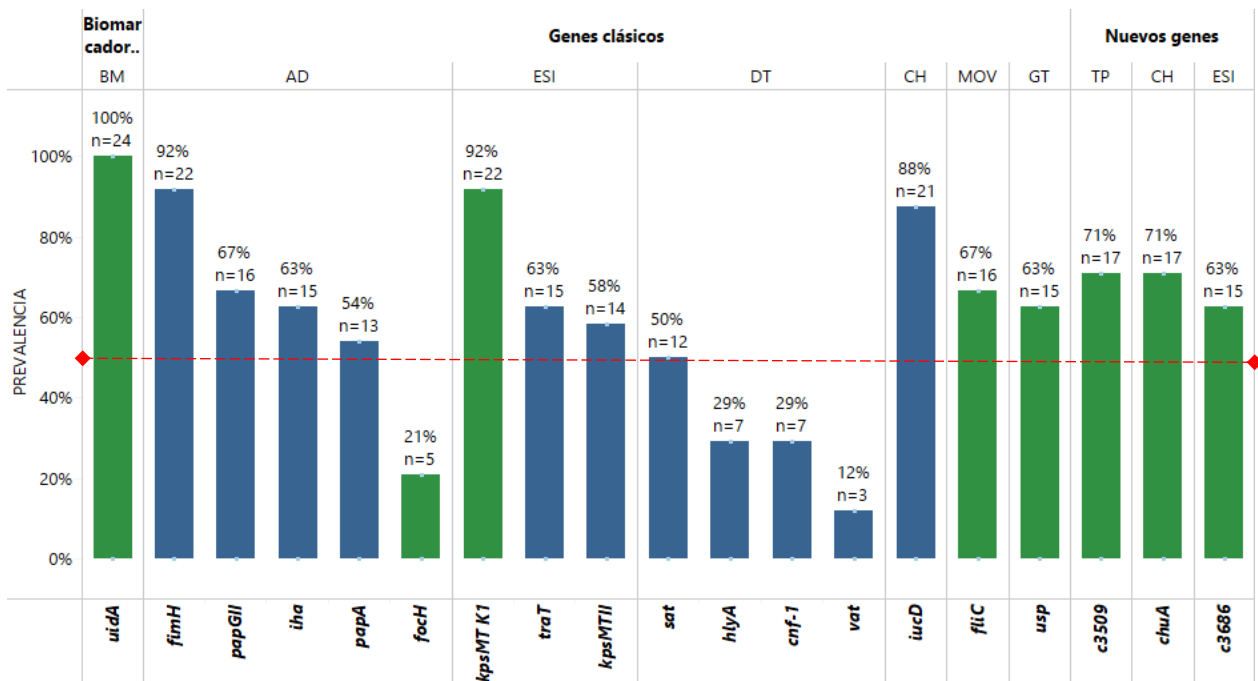


Figura 12. Genes clásicos y nuevos de virulencia presentes en el cepario de varones con ITU (n=24). Barras azules, genes identificados por Huelgas-Méndez en 2020. Barras verdes, genes determinados en este estudio. La línea roja representa el 50% (n=12) de frecuencia de los genes de virulencia. **BM:** biomarcador molecular; **AD:** adhesión; **ESI:** evasión sistema inmune; **DT:** daño tisular; **CH:** captación de hierro; **MOV:** movilidad; **GT:** genotoxicidad; **TP:** transporte.

Para determinar la asociación entre los factores de virulencia y de resistencia, se llevó a cabo la prueba de Chi-cuadrada o exacta de Fisher ($p < 0.05$). Los genes de virulencia *c3686*, *chuA*, *usp* y *fliC* se asociaron con el gen de resistencia *aac(6')-lb-cr*, simultáneamente, los genes *chuA*, *kpsMT K1* y *fliC* mostraron una relación con el gen *CTX-M1* y aquel con función de adhesión *focH* se vio relacionado con los genes *nfsA*, *sul3* y *dfrA1* (**Tabla 16**).

Tabla 16. Asociación entre los genes de virulencia y resistencia en cepas UPEC.

| Genes virulencia | Genes de resistencia (n) | | | | | | | |
|---------------------------------|--------------------------|-----------------------|-------------------------|----------------------|--------------------------------|-------------------------|-----------------------|------------------------|
| | <i>nfsA</i> n = 23 | <i>nfsB</i> n = 17 | <i>CTX-M1</i> n = 22 | <i>qnrA</i> n = 8 | <i>aac(6')-lb-cr</i> n = 18 | <i>tet(A)</i> n = 15 | <i>sul3</i> n = 23 | <i>dfrA1</i> n = 21 |
| Nuevos genes | | | | | | | | |
| <i>c3686</i> | 15 | 11 | 14 | 6 | 14 | 10 | 15 | 14 |
| <i>chuA</i> | 16 | 14 | 17 | 6 | 15 | 13 | 16 | 15 |
| Adhesión | | | | | | | | |
| <i>focH</i> | 4 | 4 | 5 | 2 | 4 | 4 | 4 | 3 |
| Evasión sistema inmune | | | | | | | | |
| <i>kpsMT K1</i> | 21 | 16 | 21 | 7 | 17 | 15 | 21 | 19 |
| Genotoxicidad | | | | | | | | |
| <i>usp</i> | 15 | 12 | 14 | 7 | 14 | 11 | 15 | 14 |
| Movilidad | | | | | | | | |
| <i>fliC</i> | 16 | 12 | 16 | 6 | 15 | 10 | 16 | 15 |
| $p < 0.01$ | | | | | | | | |
| $p < 0.05$ | | | | | | | | |

Para predecir si la coexistencia de factores de virulencia y genes de resistencia favorece a la resistencia, se llevó a cabo un análisis de Regresión Logística Binaria (RLB) u Odds Ratio (OR). Encontrándose que el gen de resistencia *aac(6')-lb-cr* se asoció positivamente con los genes *c3686*, *usp* (OR = 18, IC del 95% [1.560 - 196.319], $p = 0.02$, respectivamente), *chuA* (OR = 10, IC del 95% [1.222 - 81.810], $p = 0.03$) y *fliC* (OR = 25, IC del 95% [1.095 - 298.287], $p = 0.01$). Indicando que *c3686*, *usp*, *chuA* y *fliC* aumentan la probabilidad de que la cepa presente el gen de resistencia a fluoroquinolona *aac(6')-lb-cr* (**Tabla 17**).

Tabla 17. Análisis RLB entre factores de virulencia y el gen de resistencia antimicrobiano.

| Factor de virulencia | OR | <i>aac(6')-lb-cr</i> | |
|----------------------|----|----------------------|------|
| | | IC 95% | p |
| <i>c3686</i> | 18 | 1.560 - 196.319 | 0.02 |
| <i>chuA</i> | 10 | 1.222 - 81.811 | 0.03 |
| <i>usp</i> | 18 | 1.560 - 196.319 | 0.02 |
| <i>fliC</i> | 25 | 2.095 - 298.286 | 0.01 |

OR: odds ratio. **IC 95%:** intervalo de confianza, 95%. **p :** p -valor. **$p \leq 0.05$** asociación significativa. **OR > 1** indica que el gen de virulencia es un predictor del gen de resistencia.

8.1.3 Perfil de resistencia

En la , se muestran los geles de agarosa representativos de los amplificadores asociados a los genes de resistencia.

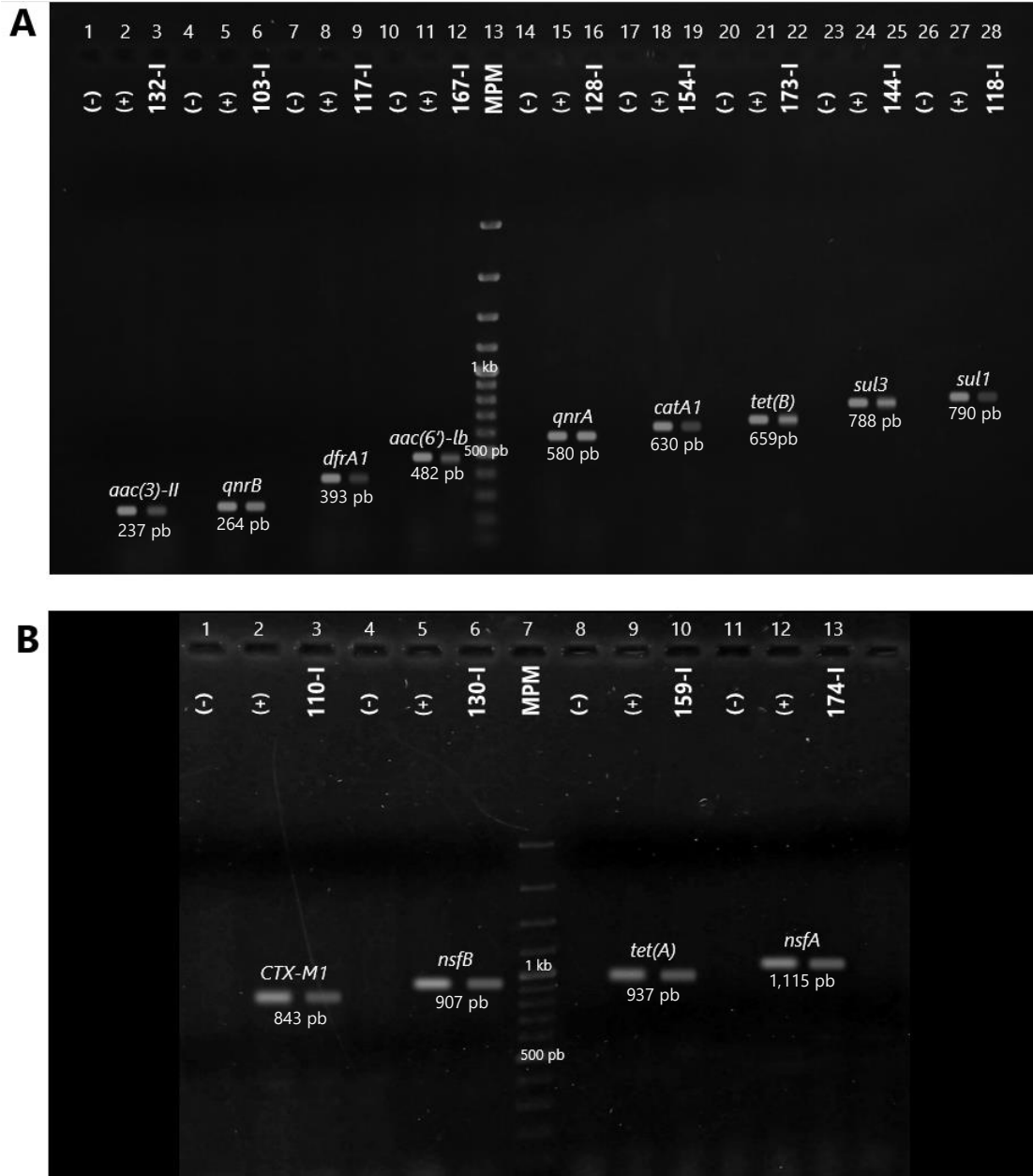


Figura 13. Determinación de 13 genes de resistencia en las cepas UPEC aislados de varones. Imagen de la electroforesis en gel de agarosa al 1%. Los genes se amplificaron por PCR individual y se muestra los resultados de la Electroforesis en gel de agarosa al 1%. **A) Carril 1, 4, 7, 10, 14, 17, 20, 23 y 26;** (-) control negativo. **Carril 2, 5, 8, 18, 24, 27;** (+) control positivo, A143EC DNA total. **Carril 11;** (+) control positivo, A23EC DNA total. **Carril 15, 21;** (+) control positivo, C7219 DNA total. **Carril 3, 6, 9, 12, 16, 19, 22, 25 y 28;** genes de resistencia amplificados *aac(3)-II* (237 pb), *qnrB* (264 pb), *dfrA1* (393 pb), *aac(6)-Ib-cr* (482 pb), *qnrA* (580 pb), *catA1* (630 pb), *tet(B)* (659 pb), *sul3* (788 pb) y *sul1* (790 pb). **Carril 13;** MPM, marcador de peso molecular GeneRuler™ 100 pb Plus DNA Ladder. **B) Carril 1, 4, 8 y 11;** (-) control negativo. **Carril 2, 9;** (+) control positivo, A143EC DNA total. **Carril 5, 12;** (+) control positivo, CFT073 DNA. **Carril 3, 6, 10 y 13;** genes de resistencia amplificados *CTX-M1* (843 pb), *nsfB* (907 pb), *tet(A)* (937 pb) y *nsfA* (1,150 pb). **Carril 7;** MPM, marcador de peso molecular GeneRuler™ 100 pb Plus DNA Ladder.

Se determinaron 13 genes de resistencia antimicrobiana de 8 familias antimicrobianas. Los genes con mayor prevalencia fueron *sul1* (100%), *sul3* (96%), *aac(3)-II* (100%), *aac(6')-Ib-cr* (75%), *nfsA* (96%), *nfsB* (71%), *CTX-M1* (92%), *dfrA1* (88%), *tet(A)* (63%), *tet(B)* (54%), y en menor prevalencia los genes *qnrA/B* (33%), y *catA1* (4%) (**Figura 14**).

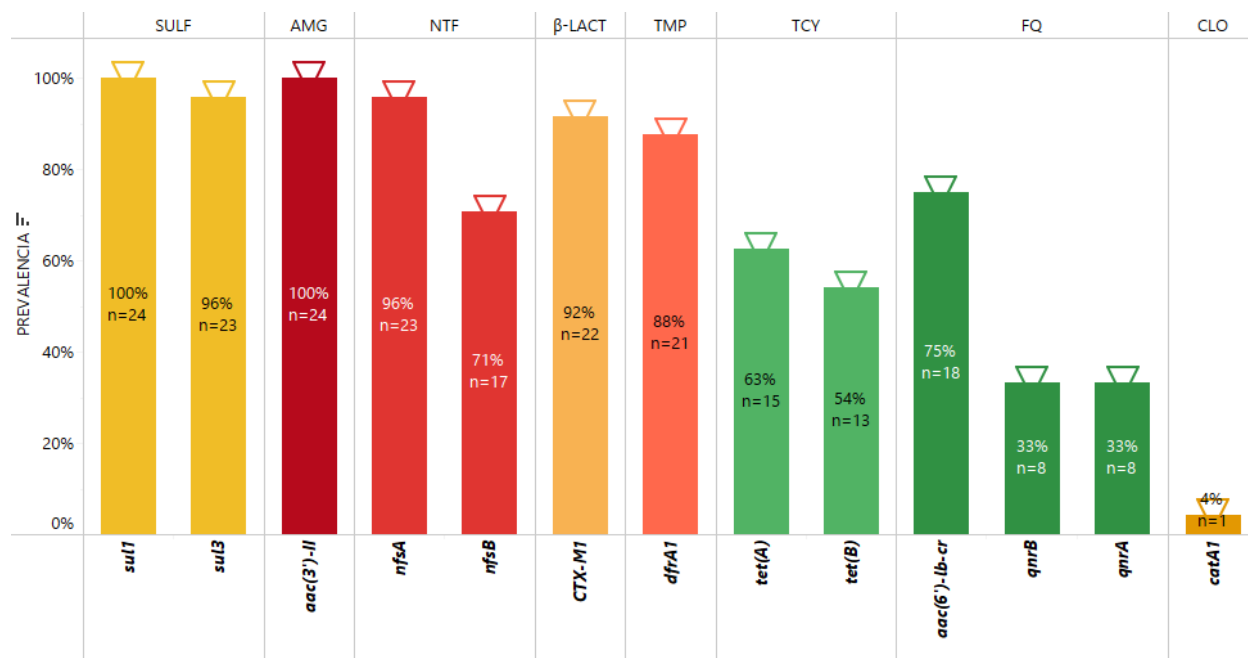


Figura 14. Resistencia antimicrobiana por familia de antibiótico en aislados de *E. coli* de varones con ITU (n=24).
SULF: sulfonamidas; **AMG:** aminoglucósidos; **NTF:** nitrofuranos; **β-LACT:** β-lactámicos; **TMP:** trimetoprim; **TCY:** tetraciclina; **FQ:** fluoroquinolonas; **CLO:** cloranfenicol.

Estos resultados de genotipo de resistencia concuerdan con el fenotipo de resistencia a aminoglucósidos, β-lactámicos, (fluoro)quinolonas, inhibidores de la vía del folato y tetraciclinas previamente determinado para cada cepa de varones. En promedio, cada cepa exhibió 9 genes de resistencia. La cepa 103-I mostró el máximo puntaje de genes de resistencia (12), seguido de las cepas 115-I, 129-I, 154-I, 161-I y 173-I con un puntaje de 11 genes, 3 de ellas asociadas al filogrupa B2 (115-I, 129-I y 161-I), una al D (154-I) y una al Clado I (173-I) (**Figura 15**).

Se llevó a cabo una prueba exacta de Fisher ($p < 0.05$), con el propósito de conocer si existe una relación estadísticamente significativa entre el genotipo y fenotipo de resistencia. El gen *CTX-M1* mostró una asociación con los β-lactámicos: ceftriaxona, cefepime y aztreonam. Existiendo además, un asociación entre los genes *qnrB*, *aac(6')-Ib-cr* y *catA1* a nitrofurantoina, ertapenem y fosfomicina, respectivamente (**Tabla 18**).

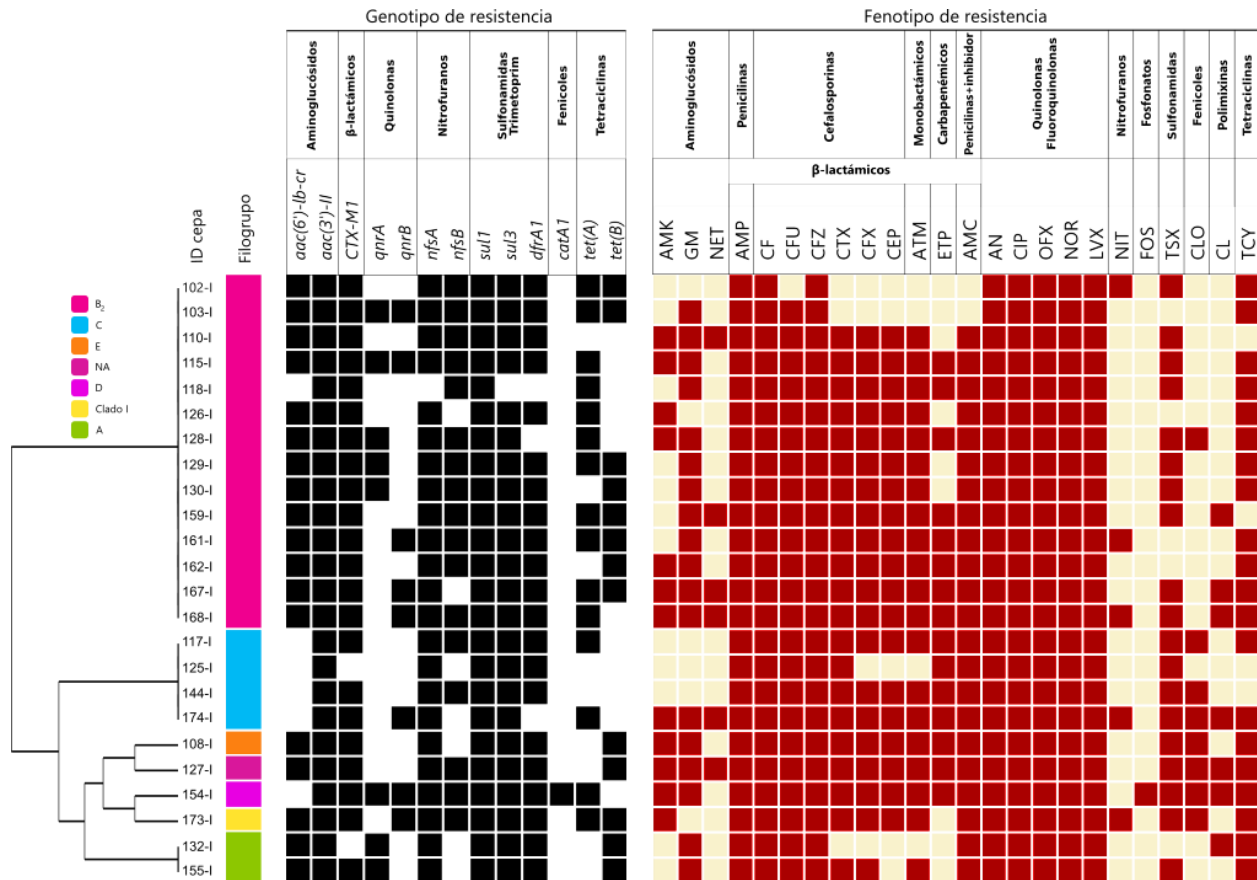


Figura 15. Dendrograma de las relaciones filogenéticas, los genotipos y fenotipos y el perfil de resistencia antimicrobiana que exhibió el cepario de varones (n=24). NA: no asignable. Negro: presente; Blanco: ausente; Rojo: resistente; Beige: sensible. AMK: amikacina; GM: gentamicina; NET: netilmicina; AMP: ampicilina; CF: cefalotina; CFU: cefuroxima; CFZ: ceftazidima; CTX: cefotaxima. CFX: ceftriaxona. CEP: cefepime. ATM: aztreonam. ETP: ertapenem. AMC: amoxicilina/ácido clavulánico. AN: ácido nalidíxico; CIP: ciprofloxacina; OFX: ofloxacina; NOR: norfloxacina; LVX: levofloxacina; NIT: nitrofurantoina; FOS: fosfomicina; CLO: cloranfenicol; CL: colistina; TSX: trimetoprima/sulfametoxazol; TCY: tetraciclina.

Tabla 18. Asociación entre genotipo y fenotipo de resistencia y agentes antimicrobianos en el cepario de *E. coli* aislados de varones (n=24).

| Genotipo de resistencia | Fenotipo de resistencia n (%) | | | | | | | | | | | |
|-------------------------|-------------------------------|--------------|--------------------|--------------|---------------------|--------------|---------------------|-------------|--------------------------|-------------|----------------------|-------------|
| | Ceftriaxona n = 20 | <i>p</i> * | Cefepime n = 19 | <i>p</i> * | Aztreonam n = 20 | <i>p</i> * | Ertapenem n = 15 | <i>p</i> * | Nitrofurantoina n = 5 | <i>p</i> * | Fosfomicina n = 1 | <i>p</i> * |
| <i>CTX-M1</i> | 20 (100) | 0.001 | 19 (100) | 0.004 | 20 (100) | 0.001 | 14 (93) | 0.70 | 5 (100) | 0.45 | 1 (100) | 0.76 |
| <i>qnrB</i> | 7(35) | 0.70 | 7 (37) | 0.48 | 7 (35) | 0.70 | 6 (40) | 0.37 | 4 (80) | 0.03 | 1 (100) | 0.33 |
| <i>aac(6)-lb-cr</i> | 15 (75) | 0.75 | 14 (74) | 0.77 | 15 (75) | 0.75 | 9 (60) | 0.05 | 4 (80) | 0.77 | 0 (0) | 0.25 |
| <i>catA1</i> | 1 (5) | 0.65 | 1 (5) | 0.60 | 1 (5) | 0.65 | 1 (7) | 0.43 | 0 (0) | 0.60 | 1 (100) | 0.04 |

p*: *p*-valor ≤ 0.05 asociación significativa.

8.1.4 Cepas híbridas (UPEC/DEC)

Para determinar la presencia de aislados híbridos en el cepario de varones se amplificaron 4 genes asociados a 3 patotipos DEC: ETEC *LT-I*; STEC *stx1*; EPEC *bfpA* y *eae* (ver material y métodos). Entre los 24 aislados de varones, solo el 13% (3/24) se clasificaron como STEC al portar el gen *stx1*. Ningún aislado presentó el gen *LT-I* propio de ETEC o *bfpA* y *eae* de EPEC (Figura 16).

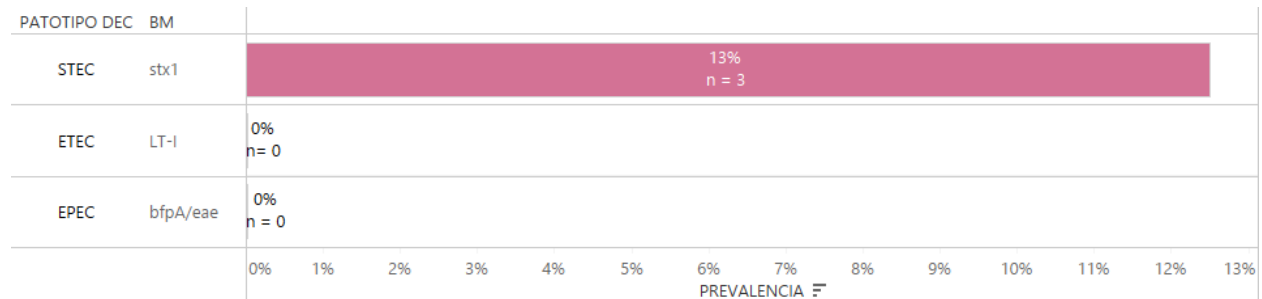


Figura 16. Presencia de cepas híbridas en cepario de varones (n=24). BM.: biomarcador molecular; *lt-I*: gen de enterotoxina termoestable; *stx1*: toxina Shiga tipo 1; *bfpA*: gen estructural del pilus formador de mechones; *eae*: gen de la intimina. STEC: *E. coli* shiga toxin; ETEC: *E. coli* Entero-toxigénica; EPEC: *E. coli* Entero-patógena.

La Figura 17 se presenta los resultados de la determinación por PCR del gen *stx1* en una electroforesis en gel de agarosa, reportándose las muestras 125-I, 173-I y 174-I como cepas híbridas (UPEC/STEC). Además, se puede observar que el resto de las cepas no presentaron el dicho gen.

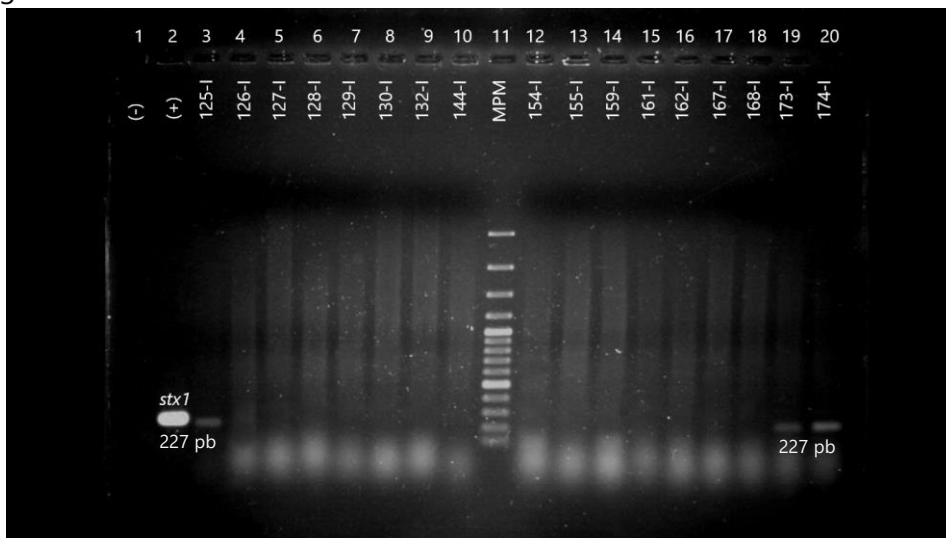


Figura 17. Determinación del gen *stx1* de STEC. Imagen de la electroforesis en gel de agarosa al 1%. Carril 1; (-) control negativo. Carril 2; (+) control positivo, EHEC EDL933 ADN total como templado. Carril 3 – 10/12 – 20; cepas 125-I, 126-I, 127-I, 128-I, 129-I, 130-I, 132-I, 144-I, 154-I, 155-I, 159-I, 161-I, 162-I, 167-I, 168-I, 173-I, 174-I. Carril 3, 19, 20; cepas positivas al gen *stx1* (227 pb). Carril 11; MPM, marcador de peso molecular GeneRuler™ 100 pb Plus DNA Ladder.

Para llevar a cabo el análisis estadístico de los tres aislados híbridos reportados en el cepario de varones, fue indispensable disponer de una considerable cantidad de variables, por lo que se incluyeron todos los factores de virulencia, filogrupos, PAIs, agentes antimicrobianos y genes de resistencia, determinados por Huelgas-Méndez 2020 y los reportados en este estudio.

De acuerdo con la prueba chi-cuadra o exacta de Fisher ($p < 0.05$), el gen *stx1* de estas tres cepas UPEC/STEC mostró una asociación con el factor de virulencia *fliC* y el fragmento *satP* (región peptidasa). Estos genes son asociados principalmente en aislados pielonefriticos. Así mismo, los grupos filogenéticos relacionados con este gen fueron el C y Clado I. También se le asoció a la PAI I_{CFT073} y a un agente antimicrobiano, nitrofurantoina (**Tabla 19**).

Tabla 19. Asociación estadística de acuerdo con la prueba chi-cuadra o exacta de Fisher del gen *stx1* entre factores de virulencia, filogrupos, PAIs y agentes antimicrobianos.

| Gen DEC | Factores de virulencia | | Filogrupos | | PAIs | Agente antimicrobiano |
|-------------|------------------------|-------------|------------|---------|--------------|-----------------------|
| | <i>fliC</i> | <i>satP</i> | C | Clado I | PAI I CFT073 | Nitrofurantoina |
| <i>stx1</i> | 0.03 | 0.04 | 0.01 | 0.007 | 0.04 | 0.04 |

p -valor ≤ 0.05 asociación significativa.

8.2 Sección de análisis bioinformático

8.2.1 Búsqueda de genomas CoEC, DEC y ExPEC y determinación de grupo filogenético

Para iniciar el estudio *in silico* se seleccionaron 27 genomas (incluidos aquellos usados por Brons y cols, 2020). En total fueron 3 controles (2 CoEC (*E. coli* comensal) y 1 DEC (*E. coli* diarreagénica)) y 24 ExPEC (*E. coli* extraintestinal), obtenidas de la base de datos de la National Center Biotechnology Information (NCBI), con fecha de corte a octubre de 2021 (**Figura 19**). Esto se utilizó para conocer si los tres posibles genes para la identificación de UPEC; *c3509*, *c3686* y *chuA*, estaban presentes en otros genomas de *E. coli*. Posteriormente, se aumentó la búsqueda de los genomas con la base pública European Nucleotide Archive (ENA), recopilando un total de 2,683 genomas de *E. coli*, con fecha de corte a mayo del 2022. Como ambas plataformas no permiten una búsqueda estrecha, se procedió a realizar una revisión manual en las secciones de *Biosample* y *Bioproject* cuidando que se respetara los parámetros de inclusión y exclusión descritos en el apartado de material y métodos. Como resultado se obtuvieron un total de 600 genomas completos de *E. coli*: 162 CoEC, 172 DEC y 266 ExPEC (**Figura 18**). El resto de los

genomas no se incluyeron, debido a que eran de una fuente de aislamiento distinto al clínico, el tipo de hospedero (no humano) y aquellos con un genoma incompleto.

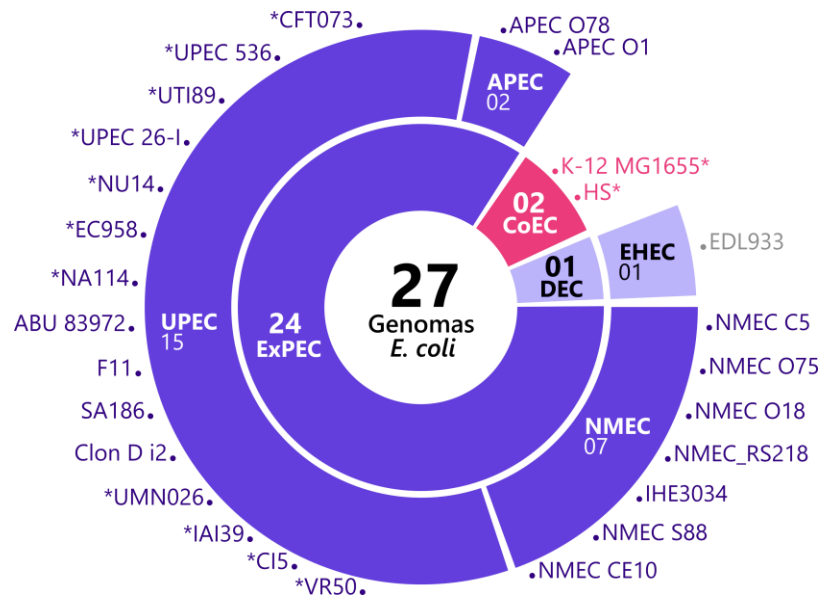


Figura 18. Genomas completos de CoEC, DEC y ExPEC, y sus categorías. Los genomas fueron seleccionados de dos bases de datos públicas NCBI con fecha de corte 31 de octubre 2021, para llevar a cabo los análisis *in silico*. *Genomas utilizados por Brons y cols ,2020. CoEC: *E. coli* comensal (rosa); DEC: *E. coli* diarreogénica (lila); EHEC: *E. coli* enterohemorrágica (lila); ExPEC: *E. coli* extraintestinal (morado).

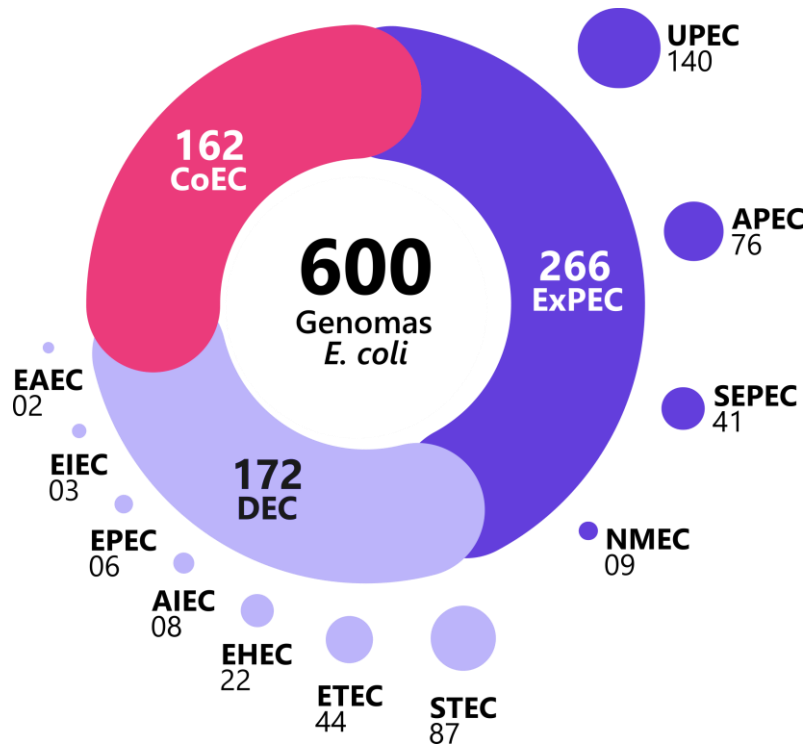


Figura 19. Genomas completos de CoEC, DEC y ExPEC, y sus subgrupos. Los genomas fueron seleccionados de dos bases de datos públicas NCBI y ENA con fecha de corte 31 de mayo 2022, para llevar a cabo los análisis *in silico*. CoEC: *E. coli* comensal (rosa); DEC: *E. coli* diarreogénica (lila); ExPEC: *E. coli* extraintestinal (morado).

Mediante la herramienta Clermontyping, los 600 genomas se clasificaron dentro de los ocho filogrupos conocidos (A, B1, B2, C, D, E, F y G) de *E. coli*. Los genomas ExPEC se distribuyeron mayormente dentro del filogrupo B2 (n= 85, 14%), seguido del filogrupo A (n= 67, 11%); en tanto que los genomas DEC se encontraron principalmente dentro del filogrupo B1 (n=84, 14%) y E (n=37, 6%); mientras que los genomas CoEC se presentaron mayoritariamente en el filogrupo A (n= 64, 11%) y B2 (n= 33, 6%) (**Figura 20**)

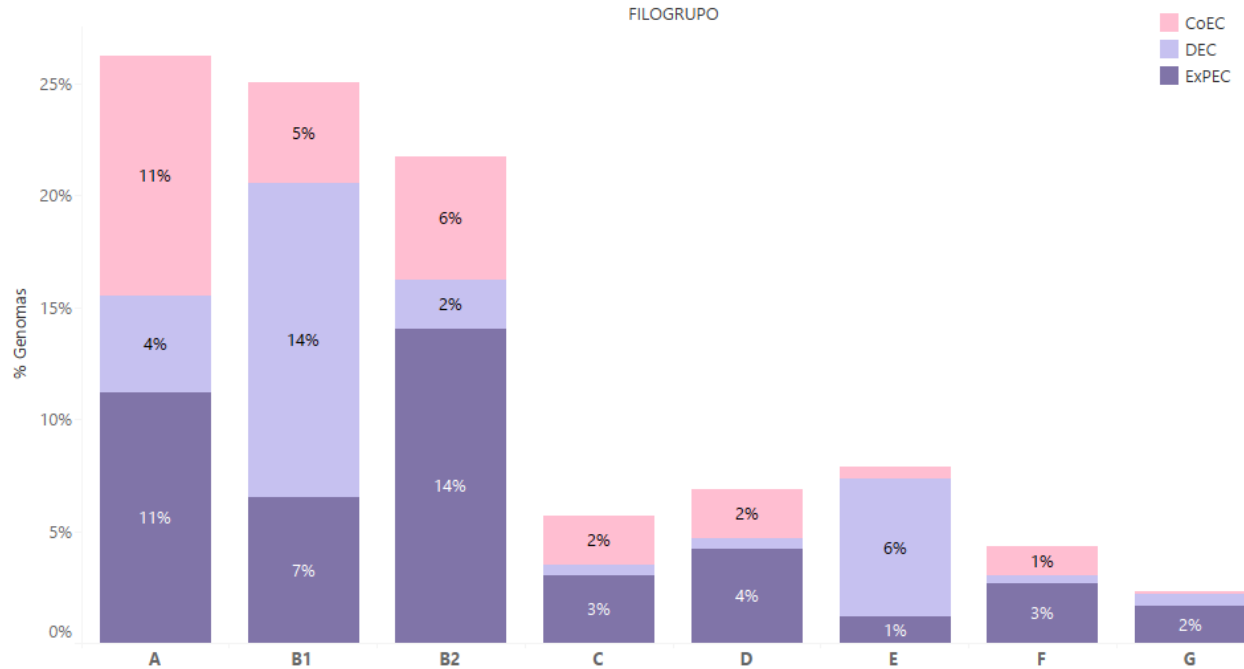


Figura 20. Prevalencia de filogrupos determinados en los 600 genomas de *E. coli*: 162 CoEC, 172 DEC y 266 ExPEC. Barras sin porcentaje: valores menores a 1%. CoEC: *E. coli* comensal; DEC: *E. coli* diarreogénica; ExPEC: *E. coli* extraintestinal.

8.2.2 Determinación de genes específicos en genomas de *E. coli*

Para conocer si los tres genes; *c3509*, *c3686* y *chuA*, presentados como específicos de UPEC estaban presentes en otros genomas de *E. coli* se utilizó la herramienta Blastn en los 600 genomas completos de *E. coli*: 162 CoEC, 172 DEC y 266 ExPEC, obtenidos de la base de datos de NCBI y ENA.

Se encontró que los genes *c3509*, *c3686* y *chuA* se presentaron en secuencias de los genomas ExPEC, DEC y CoEC; predominando el gen *c3509* con un 65%, seguido de *chuA* 43% y en menor prevalencia el *c3686* 32%; la relación *c3509*, *c3686* y *chuA* en ExPEC fue de 26%-23%-20%, DEC 24%-10%-3% y en CoEC 15%-10%-9%, respectivamente (**Figura 21**).

Simultáneamente estos genes se presentaron en 101 genomas ExPEC: 61 genomas UPEC, 17 SEPEC, 15 APEC y 8 NMEC.

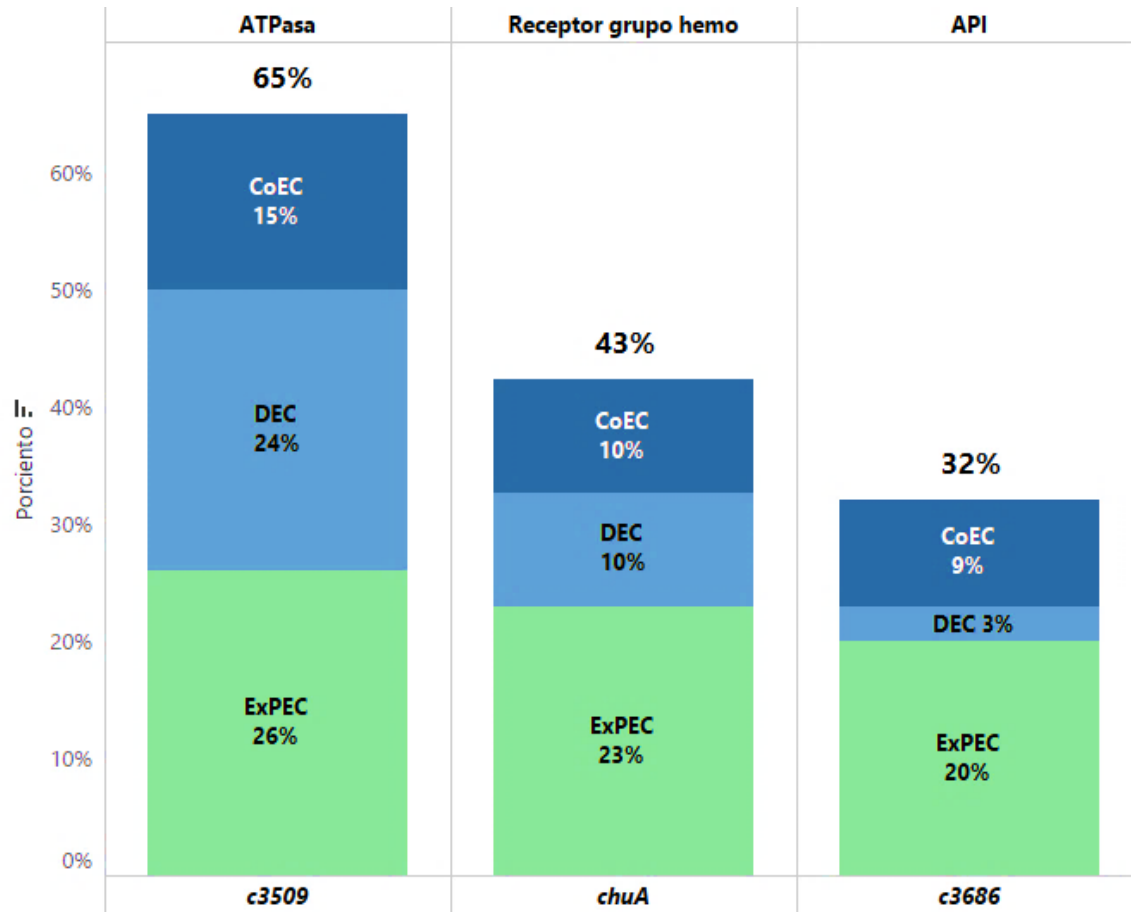


Figura 21. Prevalencia de los genes *c3509*, *c3686* y *chuA* en los 600 genomas de *E. coli*. API: arabinosa fosfato isomerasa. CoEC: *E. coli* comensal; DEC: *E. coli* diarreogénica; ExPEC: *E. coli* extraintestinal.

8.2.3 Genómica comparativa *in silico*

De los 27 genomas recopilados de nuestro antecedente directo, en la base de datos de NCBI con fecha de corte a octubre de 2021, se analizaron 5 secuencias de los genomas de *E. coli* (este número es muy cercano al número máximo de genomas permitidos para el análisis por el programa InteractiVenn), de los cuales 1 fue CoEC, 1 DEC; como controles y 3 ExPEC (**Figura 22**). Posteriormente, se analizaron un máximo de 6 genomas ExPEC; 2 UPEC, 1 APEC, 1 NMEC y 2 SEPEC (), con el propósito de identificar probables genes específicos para la determinación de UPEC.

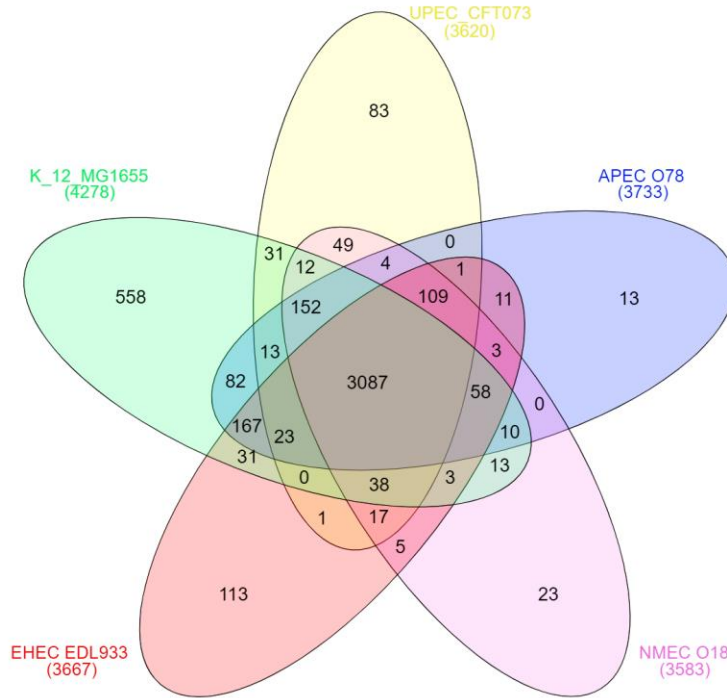


Figura 22. Diagrama de Venn comparando los genes de 5 genomas de *E. coli* CFT073: UPEC (*E. coli* uropatógena); APEC O78: *E. coli* patógeno aviario; NMEC O18: *E. coli* asociado a meningitis neonatal; EDL933: EHEC (*E. coli* Entero-Hemorrágica); K-12 MG1655: *E. coli* comensal. El número entre paréntesis corresponden al número de genes totales de cada genoma. Los valores dentro del diagrama de Venn corresponden a los genes compartidos y únicos.

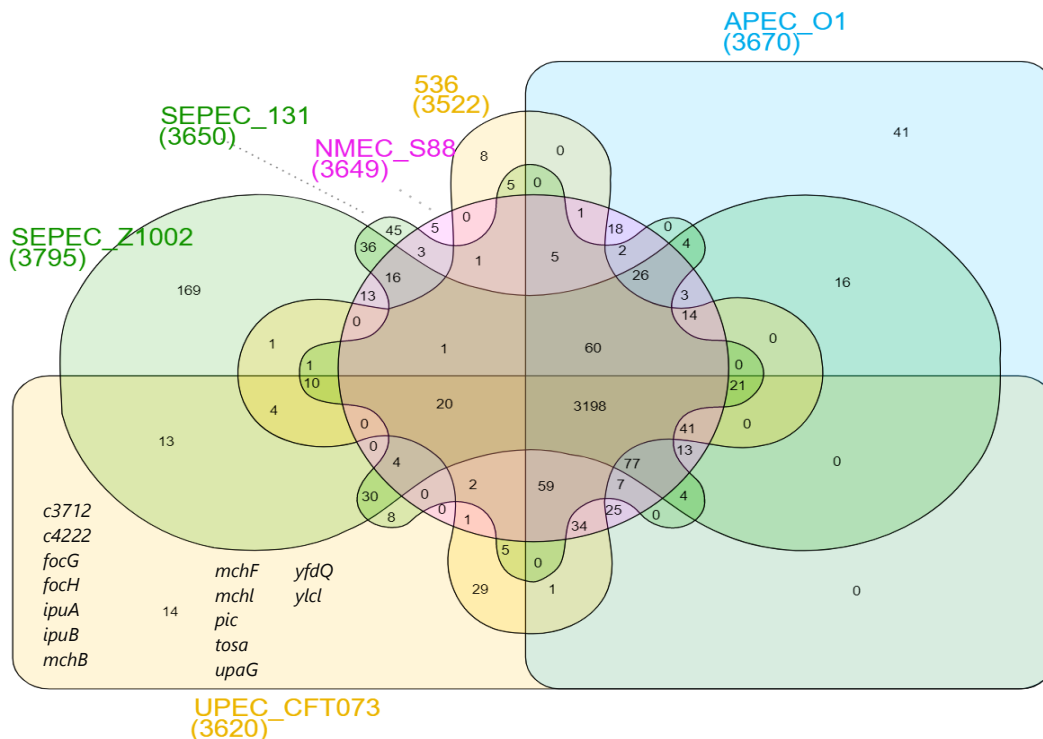


Figura 23. Diagrama de Venn comparando los genes de 6 genomas ExPEC. CFT073 y 536: UPEC (*E. coli* uropatógena); APEC O1: *E. coli* patógeno aviario; NMEC S88: *E. coli* asociado a meningitis neonatal; SEPEC 131 y Z1002: *E. coli* asociada a septicemia. El número entre paréntesis corresponden al número de genes totales de cada genoma. Los valores dentro del diagrama de Venn corresponden a los genes compartidos y únicos.

Del primer análisis comparativo de 5 genomas; 2 genomas como controles: CoEC (K-12 MG1655) y DEC (EHEC EDL933), y 3 ExPEC: UPEC CFT073, APEC O78, NMEC O18 (**Figura 23**), se obtuvieron un total de 83 posibles genes para la identificación de UPEC, asociados a la adhesión, sistema captura de hierro y regulación transcripcional, ver **ANEXO 2**. En el segundo análisis donde se compararon 6 genomas ExPEC: UPEC CFT073, UPEC 536, APEC O1, NMEC S88, SEPEC 131 y SEPEC Z1002 (), se obtuvieron 14 posibles marcadores genéticos para la identificación de UPEC, primando genes asociados a la adhesión, sistema captura de hierro y transporte (ver y **ANEXO 3**). Los genes *c3712* que codifica una Acil-AMP ligasa grasa (FAAL) y el *c4222* que codifica una proteína protectora del DNA estuvieron presentes en CFT073 en ambos análisis. Es posible observar que, al aumentar la cantidad de genomas el número de posibles genes específicos se acota.

8.2.4 Esquema de identificación de cepas UPEC

Para la propuesta de un esquema de identificación de UPEC se logró analizar un total de 171 genomas de *E. coli*; 140 genomas UPEC que fueron todos los que se recopilaron en la base de datos de NCBI a la fecha de corte y como controles se seleccionaron: 10 CoEC, 12 DEC y 9 ExPEC (el criterio para la selección de los controles fue tomando como referencia los estudios de [Lloyd et al. 2007](#), [Rascko et al. 2008](#), [Chaudhuri et al. 2012](#) y [Brons et al. 2020](#) y abarcando el mayor número de grupos filogenéticos (**Tabla 20**), recopilados en una base de datos en Microsoft® Excel, para su posterior visualización y análisis en el software Tableau Desktop.

Tabla 20. Genomas utilizados como controles, para el esquema de identificación de cepas UPEC.

| NO. | Clasificación | Patotipo | Genoma | IDGenBank | Filogrupo |
|-----|---------------|------------|-------------------|------------|-----------|
| 1 | CoEC | NA | K-12 MG1655 | CP014225.1 | A |
| 2 | | | HS | CP000802.1 | A |
| 3 | | | K-12 W3110 | AP009048.1 | A |
| 4 | | | SCU-113 | CP051765.1 | B1 |
| 5 | | | Nissle 1917 | CP007799.1 | B2 |
| 6 | | | JS316 | CP058618.1 | C |
| 7 | | | CNR65D6 | OU701452.1 | D |
| 8 | | | 88COLEC | CP070906.1 | E |
| 9 | | | CREC-544 | CP024826.1 | F |
| 10 | | | SCU-171 | CP054363.1 | G |
| 11 | DEC | EPEC | EPEC6 | CP041627.1 | A |
| 12 | | EAEC | 55989 | CU928145.2 | B1 |
| 13 | | EIEC | CFSAN029787 | CP011416.1 | B1 |
| 14 | | AIEC | L82 | CU651637.1 | B2 |
| 15 | | EPEC | EPEC1 | CP035751.1 | B2 |
| 16 | | EPEC | DS26-1 | CP035879.1 | C |
| 17 | | STEC | 2013C-4282 | CP027579.1 | Clado I |
| 18 | | STEC | M11957 | CP061337.1 | D |
| 19 | | EHEC | O157:H7str. Sakai | BA000007.3 | E |
| 20 | | EHEC | EDL933 | CP008957.1 | E |
| 21 | STEC | DEC5E | CP038383.1 | F | |
| 22 | STEC | 2012C-4502 | CP027440.1 | G | |
| 23 | ExPEC | APEC | GD33 | CP076646.1 | A |
| 24 | | SEPEC | MS14386 | LR130552.1 | B1 |
| 25 | | NMEC | C5 | CP072911.1 | B2 |
| 26 | | APEC | APEC O1 | CP000468.1 | B2 |
| 27 | | APEC | A1_181 | CP040067.1 | C |
| 28 | | SEPEC | Z1002 | CP021202.1 | D |
| 29 | | APEC | Santai | CP007592.1 | E |
| 30 | | NMEC | CE10 | CP003034.1 | F |
| 31 | | APEC | APEC O2 | CP006834.2 | G |

NA: no aplica; **CoEC:** *E. coli* comensal; **DEC:** *E. coli* diarreogénica; **ExPEC:** *E. coli* extraintestinal; Genomas UPEC, ver **ANEXO 4**.

De los 171 genomas analizados, de la base de datos de NCBI se obtuvieron 94 posibles nuevos genes que solo aparecieron en genomas UPEC, ver **ANEXO 5**, distribuidos en 54 genomas UPEC; 31 genomas pertenecieron al filogrupo B2, 8 al A, 5 al B1, 4 al filogrupo D, 3 al E, 2 al filogrupo F y 1 al C, ver **ANEXO 6**. Los genes más prevalentes entre los genomas UPEC fueron *hlyC* (35%, 19/54) acetiltransferasa, *hlyA* (33%, 18/54) α -hemolisina, *clbN* (30%, 16/54) colibactina péptido sintetasa no ribosomal, seguido de *clbB* (28%, 15/54) colibactina híbrida péptido sintetasa no ribosomal/policétido sintasa tipo I, *cnf-1* (24%, 13/54) factor necrotizante citotóxico, *papG-III* (22%, 12/54) variante alélica de la adhesina de la fimbria tipo P, *sfaH* adhesina de la fimbria tipo S y *cdiI* proteína de inmunidad (19%, 10/54, respectivamente), *sfaS* subunidad menor de la fimbria S, *sfa* subunidad estructural de la fimbria S y *cah* (17%, 9/54, respectivamente) transportador de

calcio y *fnlA* (13%, 7/54) UDP-N-acetilglucosamina 4,6-deshidratasa/5-epimerasa. En general, estos genes presentan función de adhesión y daño tisular. Además, se encontraron en genomas como CFT073, UPEC 536, UTI89 y ABU 83972, utilizadas como cepas de referencias en ensayos asociados a uropatógenos.

De igual forma, los genes ortólogos (<http://eggno-mapper.embl.de/>) determinados de los 171 genomas, fueron recopilados en una base de datos en Microsoft® Excel y, visualizados en Tableau Desktop. Se encontró un total de 144 posibles nuevos genes para la identificación de UPEC, ver **ANEXO 7**, distribuidos en 79 genomas UPEC, de los cuales 36 eran genomas del filogruppo B2, 12 al A, 10 a B1, 8 asociados a D, 5 al F, 4 al C y 1 al filogruppo G, ver **ANEXO 8**. El gen ortólogo más predominante fue el *M1-336* que se presentó en 40/79 genomas (50%), el cual codifica una proteína de homo-oligomerización, seguidos de los genes *walR* proteína reguladora de la transcripción, *hlyA* α -hemolisina, *hlyB* proteína membrana interna, *hlyC* acetiltransferasa y *hlyD* proteína membrana interna (21/79, 27%, respectivamente), *tktB* transcetolasa y *cobW* proteína de síntesis de cobalamina (17/79, 22%, respectivamente), proteína hipotética *cll* en 14/79 genomas (18%) y *fnlB* (10/79, 13%) nucleósido-difosfato-azúcar epimerasa, en su mayoría distribuidos en el filogruppo B2.

Entre ambos resultados de NCBI y eggNOG, los genes predominantes fueron aquellos que codifican una hemolisina asociados al daño tisular. Se ha observado su importancia e impacto de esta proteína en la patogénesis en una ITU, al permitirle a UPEC internalizarse en las células uroepiteliales y/o en la liberación de nutrientes como el hierro en el hospedero, estos genes fueron *hlyA* y *hlyC*, pudiendo ser considerados estos genes para la identificación de UPEC.

Adicionalmente, se recopilaron diversos estudios realizados tanto en Europa como en Latino América en el periodo 2016 - 2022, informando la prevalencia de los principales factores de virulencia clásicos reportados en cepas UPEC, con la finalidad de proponer un esquema alternativo, al ya descrito en este estudio, para su identificación. Los genes más prevalentes, entre el 50% y 100% con función de adhesión fueron la adhesina del pilus tipo 1 *fimH*, los componentes del pili tipo P: *papA*, *papC* y *papG-II* y la adhesina homóloga a IrgA *iha*. Los genes relacionados con la captación de hierro fueron el receptor de yersiniabactina *fyuA* y genes que codifican al sideróforo de aerobactina *ear*, *iutD* e *iucD*. En cuanto a los genes asociados al daño tisular la

mayor prevalencia se dio en el factor necrotizante citotóxico *cnf1*, la alfa-hemolisina *hlyA* y la toxina vacuolizante autotransportadora *sat*. Para los genes relacionados a la evasión del sistema inmune fueron el sistema de transporte del tipo ABC de la cápsula tipo 2 *kpsMTII*, el gen asociado a la supervivencia en suero *traT* y la proteína T de membrana externa *OmpT* y el gen *fliC* asociado a la movilidad (**Figura 21**).

Tabla 21. Recopilación de estudios asociados a UPEC tanto en Europa como Latino América en el periodo 2017- 2022.

| Año | País | Autor | <i>fimH</i> | Adhesión | | | | Captación hierro | | | | Daño tisular | | | Evasión inmune | | | Movilidad <i>fliC</i> |
|------|----------|---------------------|-------------|-------------|-------------|---------------|------------|------------------|-------------|------------|-------------|--------------|-------------|------------|----------------|-------------|-------------|--------------------------|
| | | | | <i>papA</i> | <i>papC</i> | <i>papGII</i> | <i>iha</i> | <i>fyuA</i> | <i>iutA</i> | <i>aer</i> | <i>iucD</i> | <i>cnf-1</i> | <i>hlyA</i> | <i>sat</i> | <i>KpsMTII</i> | <i>OmpT</i> | <i>traT</i> | |
| 2016 | Irán | Tabasi | 100% | | | | | | | 73% | | | | | | | | 67% |
| | México | Ochoa | 95% | | | 92% | | | | | | 69% | | | | | | |
| 2017 | Mongolia | Munkhdelger | 90% | | | | | 70% | 62% | 56% | | | | | 59% | | 66% | |
| 2018 | México | Ixtapan-Tejero_02 | 100% | | | | 66% | | | | 86% | | | 77% | | | | |
| | | Ballesteros-Monreal | 100% | | | | 64% | | | | 80% | | | | | | | |
| | | Ramírez-Castillo | 83% | | 50% | | | 58% | | | | | | | | | | |
| 2019 | Brasil | De-Souza | 100% | | 98% | | | | | | | | | | 99% | | | 84% |
| | México | Xicohtencatl-Cortes | 100% | | | 75% | | 64% | | | 64% | 69% | 76% | | | | | 71% |
| 2020 | Colombia | Baldiris-Ávila | 97% | | | | | 81% | 75% | | | | | | 67% | 67% | 59% | |
| | México | Huelgas-Méndez | 92% | 54% | | 67% | 63% | | | | 88% | | | 50% | 58% | | | 63% |
| | | Cortez de la Puente | 98% | | | | | | | | 76% | | | | | | | 53% |
| 2021 | Corea | Miri Hyun | 98% | 67% | 70% | 72% | | 99% | 74% | | | | | | 59% | | 78% | |
| 2022 | México | Belmont-Monroy | 97% | | | | | | 61% | 61% | | | | | | | | |

Discusión

El presente trabajo de investigación se centró en el estudio de cepas de varones con ITU. Debido a las condiciones provocadas por la pandemia de COVID-19 durante el período 2020-2022, este trabajo se dividió en dos secciones; la primera relacionada con el análisis experimental y la segunda al análisis bioinformático.

En la sección experimental se confirmó que las cepas pertenecían a la especie *E. coli* a través de la determinación del gen *uidA*. El gen *uidA* es un gen conservado que se utiliza en los ensayos de tipificación multilocus de secuencias (MLST) en el esquema del Instituto Pasteur. Su presencia en UPEC, es para metabolizar los β -glucuronidos propios de la orina y obtener gliconas, que es una azúcar sencilla, que UPEC es capaz de utilizar como fuente de carbono. Además, se determinó la presencia de genes denominados como clásicos, nuevos de virulencia y genes de resistencia en 24 cepas aisladas de pacientes varones que cursaron una ITU que provenían del Hospital Regional ISSSTE del Estado de Puebla durante el periodo de 2015 – 2016. Además, para validar la distribución y características genotípicas del cepario, los resultados se sometieron a la prueba Chi-cuadrada o exacta de Fisher ($p < 0.05$) y a un análisis de Regresión Logística Binaria (RLB, Odds Ratio) asociada a la prueba de Chi-cuadrada.

Se encontró que los nuevos factores de virulencia: *c3509*, *c3686* y *chuA*, están asociados significativamente ($p < 0.05$) entre ellos y, con el gen *usp*. De acuerdo con [Rihtar y cols, 2020](#) la proteína específica uropatógena (*Usp*) de *E. coli* es una genotoxina asociada a cepas que provocan prostatitis, pielonefritis y bacteriemia. [Porcheron y cols, 2013](#) informan que el gen *chuA* contribuye a la captación de hierro en los riñones. Es comprensible entonces la asociación significativa que se encontró de los genes *c3686* (involucrado en la biosíntesis de la cápsula), *chuA* y *usp* relacionados todos a enfermedad pielonefrítica. El *c3509* se ve involucrado en la captación de oligoelementos y su posible asociación con estos genes; *c3686*, *chuA* y *usp*, pudiera verse también relacionado con pacientes que cursan una infección en vías altas. Esto parece indicar que estos 4 genes podrían estar siendo expresados a nivel renal y podrían estar colaborando entre ellos para generar un cuadro pielonefrítica.

En nuestro trabajo de investigación de los 4 genes clásicos investigados, 3 fueron los más prevalentes: *kpsMT K1* (92%), *fliC* (67%) y *usp* (63%). El porcentaje de *kpsMT K1* es más alto que el encontrado en cepas aisladas en Francia (n=210; 106 mujeres y 104 varones), donde *kpsMT K1* se presentó en el 51% (18/35) de los pacientes con prostatitis y 48% (25/52) en pacientes con cistitis y pielonefritis 48% (27/56), respectivamente (Lavigne et al. 2016). De acuerdo con Goh y cols, 2017 la expresión de la cápsula K1 se ha reportado en las células superficiales de la vejiga y en pacientes con pielonefritis. Su presencia le brinda a UPEC una mayor supervivencia al protegerla contra la fagocitosis, la destrucción mediada por el complemento y sobre todo en el desarrollo de comunidades intracelulares bacterianas (IBC) (Goh et al. 2017). En el estudio realizado en Brasil por De Souza y cols, 2019 en 100 cepas aisladas de muestras nosocomiales reportaron que los genes más predominantes fueron *fimH* (100%), *fliC* (95%), *papC* (77%) y *kpsMTII* (56%). Ramírez-Castillo y cols, 2018 reportan que la presencia de *kpsMT* (complejo proteico encargado de la traslocación de la cápsula) en aislados mexicanos, está asociada a pielonefritis. En el presente trabajo considerando todos los factores de virulencia hasta ahora determinamos en UPEC aislada de varones, el porcentaje del gen capsular *kpsMT K1* como el más alto junto con el gen de la adhesina del pili tipo 1 y el gen de aerobactina, esto indica que la adherencia mediada por pili tipo1, la evasión de respuesta inmune a través de la cápsula y la captación de hierro por aerobactina juegan un papel importante en la patogénesis de la *E. coli* aislada de varones. Con respecto al gen *fliC* el 67% de la *E. coli* analizadas lo poseen, se sabe que la expresión flagelar en UPEC contribuyen a la patogenicidad de la ITU de varias maneras, principalmente en la movilidad asociada con el ascenso bacteriano desde la vejiga hasta los riñones, lo que conduce al desarrollo de pielonefritis. Se sabe que *E. coli* tiene movilidad variable, por ello, encontramos cepas que no amplificaron el gen *fliC*; es posible que dichas cepas no posean dicho gen y difícilmente se trataría de que posean variables del gen que no pudieron ser amplificadas con los oligonucleótidos, porque estos fueron diseñados en regiones conservadas (Acharya et al. 2019; De Souza et al. 2019; Huelgas-Méndez 2020). De manera general, considerando el trabajo previo de Huelgas-Méndez 2020 y el presente estudio, dentro del cepario de varones, los genes clásicos más predominantes con un 92% (n=22) y 88% (n=21) fueron *fimH*, *kpsMT K1* e *iucD*, estos con función de adhesión, evasión del sistema inmune y captación de hierro, respectivamente. Seguido de los

nuevos genes *c3509*, *chuA* fue del 71% (n=17) y 63% (n=15) para el *c368* y de *papGII*, *iha* (63%), *traT* y *usp* (63%) y *fliC* (67%), todos se presentaron en más del 60%. Con 50% *sat* y los genes con menor prevalencia en el cepario fueron *focH* (21%), *hlyA*, *cnf-1* (29%, respectivamente) y *vat* (12%). Los genes reportados con una alta prevalencia ($\geq 50\%$) se encuentran asociados a infecciones en vías altas. Es importante mencionar que el rango de edad de los pacientes varones cursando ITU fue de 46 – 91 años, donde el 63% de los varones se agruparon en 65 años y más, de acuerdo a la clasificación del SINAVE, probablemente un condicionante para el desarrollo de pielonefritis, al tratarse de pacientes en los extremos de la vida. Al no contar con más información clínica del paciente para lograr una asociación entre la clínica y los resultados a nivel molecular de este estudio, los hallazgos son inferidos. Un dato interesante es que el 67% de incidencia del gen *fliC*, se determinó usando nuevos oligonucleótidos que abarcan regiones más conservadas con respecto a los estudios anteriores de nuestro grupo de trabajo ([Ballesteros Monrreal 2018](#); [Cortez de la Puente 2020](#); [Huelgas-Mendez 2020](#); [Ixtapan-Tejero 2018](#)) y el análisis de probabilidad, ver **ANEXO 9**, indica que hay relación entre la presencia de este gen de la adhesina flagelar con *fimH*, *papA*, *hlyA*, *KpsMTII* y *cnf-1* indicando que aquellas cepas que poseen *FliC* tienen capacidad de producir una infección de vías urinarias altas, esta asociación se ha reportado en varios estudios ([De-Souza et al. 2019](#); [Tabasi et al. 2016](#); [Xicohtencatl-Cortes et al. 2019](#)).

Contrastando con los resultados del cepario de mujeres aisladas del mismo hospital y período, encontramos que a excepción del gen *kpsMT K1* que no ha sido determinado, los genes más frecuentes fueron *fimH* e *iucD* con un 98% y 80% respectivamente. En dicho cepario *papGII*, *iha*, *traT*, se presentaron en un porcentaje $< 60\%$ (27%, 45% y 53%) respectivamente, que es menor al encontrado en el presente estudio. Nuestros resultados concuerdan con el cepario de mujeres en que los genes con menor prevalencia fueron *hlyA* (20%), *cnf-1* (14%), y *vat* (6%) ([Cortez de la Puente 2020](#); [Ixtapan-Tejero 2018](#)). [Ballesteros-Monrreal 2018](#) analizó un total de 215 aislados de UPEC de mujeres con ITU, de dos regiones del país: Puebla 72 aislados y Sonora 143 aislados. Los genes más prevalentes tanto en Puebla como en Sonora también fueron *fimH* (100%), *iucD* (80% y 90%), mientras que *iha* (64% y 56%) coincide en porcentajes cercanos al 60%. En el presente estudio el gen de hemolisina, toxina vacuolizante y secretada se expresaron en menor porcentaje que en cepas de mujeres *hlyA* (44% y 33%), *vat* (26% y 29%), *sat* (42% y 26%) y en porcentaje más

alto para *cnf-1* (18% y 12%). Finalmente, en las cepas de varones se presentó más *fliC* (67%) que en el estudio de Ballesteros (30% y 23%). En cuanto a la prevalencia de los genes *fliC*, *usp*, *focH*, *c3509*, *chuA* y *c3686* no ha sido determinada aun en el cepario de mujeres de los tres antecedentes directos mencionados.

De acuerdo con nuestros resultados y el esquema propuesto por [Brons y cols, 2020](#), el 79% (19/24) del cepario de varones se identificó como cepas UPEC, al encontrarse al menos uno de los tres genes específicos: *c3509*, *c3686* y *chuA*. [Brons y cols, 2020](#) analizaron un total de 128 aislados de *E. coli* de mujeres identificando al 95% (121/128) como cepas UPEC y distribuidos mayormente en el filogrupo B2, el 5% que no amplificó dichos genes son del filogrupo A, del que se ha reportado que pertenecen las cepas comensales. Esto concuerda con nuestros resultados, ya que el 21% de las cepas que no amplificaron estos genes, pertenecen a filogrupo no asignable, C y A.

El análisis de Regresión Logística Binaria (RLB) resulta útil para los casos en los que se desea predecir la presencia o ausencia de una característica en particular. Bajo este análisis encontramos que los genes *c3686*, *chuA*, *usp* y *fliC* se asocian positivamente (Odds Ratio > 1) con el gen *aac(6')-lb-cr*, lo que significa que la presencia de estos genes aumenta la probabilidad de que la cepa presente también el gen *aac(6')-lb-cr* involucrado en la resistencia a fluoroquinolonas; este patrón fue detectado en 18 cepas de varones, a saber; 102-I, 103-I, 108-I, 110-I, 115-I, 126-I, 127-I, 128-I, 129-I, 130-I, 132-I, 155-I, 159-I, 161-I, 162-I, 167-I, 168-I y 173-I. Este resultado puede deberse a que el tratamiento empírico inicial frente a una ITU en vías altas suele ser (fluoro)quinolonas, ya que la pielonefritis es una ITU complicada. Esto estaría ejerciendo una presión de selección para la coexpresión de los genes *c3686*, *chuA*, *usp* y *fliC* agravando el cuadro infeccioso lejos de resolverlo. En promedio, las cepas con este patrón presentaron de entre 3 y 2 genes clásicos y nuevos de virulencia, respectivamente. Los genes clásicos más prevalentes fueron *kpsMT K1* (71%), *fliC* (63%) y *usp* (51%). En cuanto a los genes nuevos *chuA* 63% fue el más prevalente, seguido de *c3509* y *c3686* (58%), respectivamente. De acuerdo con varios autores, la presencia de estos genes clásicos en cepas UPEC, suelen estar asociados a infecciones en vías altas ([Acharya et al. 2019](#); [De Souza et al. 2019](#); [Goh et al. 2017](#) [Lavigne et al. 2016](#); [Rodríguez-Castillo et al. 2018](#)).

Garza-Montúfar y cols, 2018 reportan que la resistencia puede deberse a la administración indiscriminada de antibióticos en infecciones que no requieren fármacos antibacterianos como los padecimientos virales, terapias antibióticas inadecuadas (dosis, tiempo de tratamiento, uso del antibiótico equivocado), incumplimiento del tratamiento por parte del paciente y la venta no autorizada de antibióticos. Todo esto, ha generado poco a poco la aparición y diseminación de cepas resistentes, esta resistencia antibiótica puede ser secundaria a mutaciones cromosómicas, que hacen que los microorganismos aumenten la eliminación del antibiótico o limiten su disposición dentro del mismo. Hay otros mecanismos que generan resistencia antibiótica y que son codificados por transposones, bacteriófagos y plásmidos adquiridos por los microorganismos a través de transferencia genética horizontal.

De las 24 cepas de varones, 24 (100%) fueron positivos a *sul1* y *aac(3)-II*, 23 (96%) para *sul3* y *nfsA*, 22 (92%) y 21 (88%) para *CTX-M1* y *dfrA1*, respectivamente, 18 (75%) para *aac(6')-lb-cr*, 17 (71%) a *nfsB*, 15 (63%) y 13 (54%) a *tet(A)* y *tet(B)*, respectivamente, 8 (33%) para *qnrA/B*. Finalmente, 1 (4%) a *catA1*.

Nuestros resultados de genes asociados a resistencia a quinolonas, *qnrA/B*, concuerdan con el estudio publicado por Ramírez-Castillo y cols, 2018 en Aguascalientes, ya que, de las 24 cepas aisladas de varones, 29% fueron *qnrA* y 25% *qnrB*. Se sabe, que las fluoroquinolonas son utilizadas ampliamente para el tratamiento de las infecciones urinarias en pacientes masculinos. Sin embargo, varios estudios revelan que existe una mayor resistencia asociada a mutaciones cromosómicas en aislados UPEC en las subunidades *gyrA* (Ser 83 Leu, Asp 87 Asn, Gly 114 Ser), *gyrB* (Ser 464 Phe y Thr 469 Met), *parC* (Ser 80 Ile, Thr 66 Asn, Glu 84 Val, Thr 66 Tyr), *parE* (Glu 460 Lys, Ser 458 Ala, Ile 464 Phe y Leu 445 His) en combinación con el gen *aac(6')-lb-cr* que codifica un aminoglucósido acetiltransferasa que provoca la inactivación de la fluoroquinolona por acetilación o también en combinación con bombas de expulsión a múltiples fármacos *oqxAB* y *qepA*, lo que pudiera explicar la alta resistencia fenotípica a quinolonas y fluoroquinolonas (100%) dentro del cepario y la baja prevalencia de los genes *qnrA/B* 33% (8/24). Para corroborar estos resultados se sugiere continuar con la caracterización asociada a bombas de flujo como *oqxAB* y *qepA* y la búsqueda de mutaciones en *gyrA*, *gyrB*, *parC* y *parE* (Basu and Mukherjee 2019; Dehbanipour et al. 2019; Esmaeel et al. 2020; Mahapatra et al. 2022; Park 2020).

En nuestro estudio se encontró una alta prevalencia de genes asociados a la resistencia: sulfonamidas *sul1* (100%) y *sul3* (96%); trimetoprima *dfrA1* (88%); y aminoglucósidos *aac(3')-II* (100%) y *aac(6')-Ib-cr* (75%) pudiéndose relacionar estos resultados con integrones de clase 1. [González-Villalobos y cols, 2022](#) identificaron y caracterizaron integrones en 83 cepas MDR de pacientes mexicanos ambulatorios con ITU. Encontrando un total de 8 arreglos genéticos, donde los casetes presentaron genes de resistencia a trimetoprima (*dfrA1*, *dfrA5*, *dfrA12*, *dfrA17* y *dfrB4*), aminoglucósidos (*aadA1*, *aadA2* y *aadA5*) y eritromicina (*ereA2*). Los integrones de clase 1 (*intI1*) fueron los más predominantes (64%, 53/83) y mayormente distribuidos en los filogrupos B2 (42%, 22/53) y D (21%, 11/53). El 14% y 9% de los integrones de clase 1 en el filogrupo B2 y D, respectivamente, presentaron la disposición *intI1 – dfrA1 – aadA1 – qacE – sul1*. En el presente estudio, los genes *dfrA1* y *sul1* fueron encontrados en el cepario de varones, por lo que sería interesante determinar el tipo de integrones presente en nuestro cepario, ya que proporcionaría una mejor comprensión de los factores y mecanismos que promueven la adquisición y propagación de la resistencia a trimetoprima, aminoglucósidos y sulfonamidas entre cepas UPEC.

Dentro de los genes de resistencia a nitrofurantoina, encontramos una alta prevalencia de *nfsA* 96% y *nfsB* 71%. Sin embargo, dentro del cepario se reportó una *baja* resistencia fenotípica a este antibiótico (20%, 5/24), el cual es prescrito contra ITU bajas no complicadas. Esta diferencia porcentual entre el genotipo y fenotipo, puede deberse, a que se han reportado sustituciones en aminoácidos, tanto en cepas sensibles; *nfsA* (Glu58Asp, Ile117Thr, Lys141Glu, Gln147Arg y Gly187Asp), *nfsB* (Gly66Asp, Val93Ala, Ala74Glu), como resistentes; *nfsA* (His11, Ser33, Gln67, Gln147, Arg203), *nfsB* (Gln44, Met75, Arg107, Lys122, Gly192, Arg207) ([Sorlozano-Puerto et al. 2020](#)).

De entre las cepas UPEC, se observó también la presencia de los genes *CTX-M1* 92%, *tet(A)* 63%, *tet(B)* 54% y *catA1* 4%. El uso de cloranfenicol para el tratamiento de una ITU es muy raro esto puede explicar la baja prevalencia reportada del gen de resistencia a cloranfenicol *catA1* con un 4% en nuestro estudio. El gen *bla_{CTX-M1}* mostró una asociación significativa con la resistencia a ceftriaxona, cefepime y aztreonam. Los genes *qnrB*, *aac(6')-Ib-cr* y *catA1* presentaron una asociación significativa con el fenotipo de resistencia a nitrofurantoina, ertapenem y fosfomicina, respectivamente, lo que podría indicar un proceso de coselección. En un estudio realizado en

Bangladesh por [Rahma y cols, 2022](#) predijeron la asociación de resistencia fenotípica y genotípica en 42 cepas UPEC; 34 mujeres y 8 varones. En dicho estudio, se observó que, los aislados UPEC con un fenotipo de resistencia carecían de los propios genes de resistencia asociados, indicando que la resistencia pudiera estar mediada por múltiples genes. Asimismo, algunos aislados albergaban genes de resistencia, pero fenotípicamente no eran resistentes. En ocasiones, el fenotipo y genotipo por sí solos no pueden predecir con precisión el resultado del otro, ya que los mecanismos moleculares de resistencia son multifacéticos. Por lo que, la presencia o ausencia de un gen específico correspondiente a un fenotipo en particular, no implica necesariamente que la cepa sea resistente o susceptible.

Respecto a la determinación de cepas híbridas (UPEC/DEC), en nuestro cepario se encontró que el 13% (3/24; 125-I, 173-I y 174-I) de ellas portaban el gen *stx1*, clasificando a estas cepas como UPEC/STEC. Ningún aislado mostró evidencia de pertenecer al patotipo DEC, categorías ETEC y EPEC. STEC tiene la capacidad de provocar en el ser humano diarrea hemorrágica, insuficiencia renal e incluso la muerte. Su característica principal es la producción de toxina Shiga-like toxin o Stx. *Stx1* es una estructura altamente conservada que es idéntica a la de la toxina Shiga de *Shigella dysenteriae* tipo 1. Esta toxina puede viajar a través del torrente sanguíneo hasta los riñones, dando lugar a inflamación renal. El daño renal puede evolucionar al Síndrome Urémico Hemolítico (SUH) ([Herrera-Arias et al. 2019](#)). En este estudio se encontró, que el gen *stx1* mostró una asociación significativa ($p < 0.05$) con el factor de virulencia *fliC*, el fragmento *satP* (parte del gen *sat* que codifica la subunidad peptidasa de la toxina Sat) y la PAI I_{CFT073} (alfa-hemolisina, pilus -P, Iha, Sat, Aerobactina, Ag43, cápsula K2). Estos resultados son evidencia, de que estas cepas híbridas tienen el potencial para ocasionar una infección en vías altas y por ende un daño renal. [Tewawong y cols, 2020](#) analizaron un total de 208 cepas UPEC aisladas de pacientes tailandeses cursando ITU, donde después del filogrupo B2 (59%), el filogrupo C (13%) fue el más prevalente entre los aislados, se presume que los aislados clasificados en los filogrupos C y Clado I se asocian principalmente a aislados de *E. coli* ambientales, lo que implica que estos aislados pudieran estar asociados con la falta de buenas prácticas de higiene. [Herrera-Arias y cols, 2019](#) informan que el ganado bovino es el principal reservorio del gen *stx1* y por ende la ingesta de alimentos derivados de estos animales son una fuente muy importante de

infección. Estos resultados podrían explicar la asociación significativa ($p < 0.05$) del gen *stx1* con el filogrupo C, Clado I y resistencia a nitrofurantoina, probablemente los aislados 125-I (filogrupo C), 173-I (Clado I) y 174-I (filogrupo C), las tres cepas resistentes a nitrofurantoina, tienen un origen ambiental y/o derivado del ganado bovino y, quizá el uso indiscriminado de nitrofurantoina en este tipo de ganado explicaría la asociación reportada en este estudio.

Es importante aclarar que en nuestro estudio si existió una diferencia porcentual entre la mayoría de nuestros resultados y los reportados en estos estudios, puede deberse al número de cepas caracterizadas, el tipo de hospedero (mujeres y varones), edad del paciente y localización geográfica de la población de estudio.

En cuanto a la sección del análisis bioinformático, los nuevos genes; *c3509*, *c3686* y *chuA* reportados por [Brons y cols, 2020](#) como específicos de UPEC al reportarse ausentes en genoma de *E. coli* comensal (CoEC) como en otros agentes etiológicos responsables de infección del tracto urinario (ITU). Estos genes codifican una presunta proteína de unión a ATP de un transportador de acoplamiento de energía, una proteína hipotética arabinosa-5-fosfato-isomerasa (API) y un receptor de membrana externa del grupo hemo/hemoglobina, respectivamente. Inicialmente estos genes fueron buscados en 27 genomas de *E. coli*: 2 CoEC, 1 DEC y 24 ExPEC, cuya prevalencia fue la siguiente; *c3509* 93% (25/27), *c3686* y *chuA* 81% (22/27), respectivamente. Para continuar con esta búsqueda, se aumentó la cantidad de genomas completos de *E. coli* a 600: 162 CoEC, 172 DEC y 266 ExPEC; UPEC 140, recopilados tanto en la base de datos de NCBI como de la base pública Europea ENA. Encontrándose que los 3 genes putativos analizados se encuentran presentes tanto en genomas ExPEC, DEC y CoEC, no considerándose exclusivos de UPEC. A pesar de ello y, de acuerdo con el análisis de Regresión Logística Binaria (RLB), estos genes putativos, pueden ser predictores ($OR > 1$) de resistencia, asociados al gen *acc(6')-lb-cr* que confiere resistencia a fluoroquinolonas. Además, de los 27 genomas analizados, encontramos que en promedio estos compartían 3,142 genes, concordando este resultado con diversos estudios donde se reporta que independientemente de la cantidad de genomas analizados el tamaño central de *E. coli* se mantiene entre 1,000 y 3,000 genes. [Rascko y cols, 2008](#) analizaron un total de 17 genomas de *E. coli*: 3 CoEC, 9 DEC y 5 ExPEC (4 UPEC y 1 APEC) encontrado que el core o el tamaño central resultó ser de aproximadamente 2,200 genes. Además, informó que a pesar de

que el pangenoma de *E. coli* sea abierto contiene una región de más de 13,000 genes no caracterizados y que pudieran ser posibles nuevos genes específicos para su identificación. [Decano y cols, 2019](#) trabajaron con 4,071 genomas de *E. coli* de secuencia tipo ST131 recopiladas en la base de datos pública de NCBI de diversas fuentes de 170 Bioproyectos, reportando un core de 3,700 genes. Finalmente, [Munhoz y cols, 2021](#) reportan que en promedio *E. coli* presenta un total de 5,000 genes de los cuales el 40% ($\approx 2,000$ genes) son compartidos entre ellos ([Decano and Downing 2019](#); [Munhoz et al. 2021](#); [Rasko et al. 2008](#)). También fue posible determinar dos posibles nuevos genes para la identificación de UPEC, el *c3712* que codifica una Acil-AMP ligasa grasa (FAAL) y el *c4222* que codifica una proteína protectora del DNA. Sin embargo, pudo observarse que, al aumentar la cantidad de genomas el número de posibles genes específicos se acotaba. De ahí, que de los 600 genomas recopilados elaboramos una base de datos de sus genes, obtenidos de la página de NCBI y eggNOG. El análisis de la base de datos elaborada de NCBI arrojó que los posibles genes para la identificación de UPEC, abarcan genes reconocidos como clásicos de UPEC, tales como: *hlyA* α -hemolisina, *hlyC* acetiltransferasa que activa a HlyA, *cnf-1* factor necrotizante citotóxico, *papG-III* variante alélica de la adhesina de la fimbria tipo P y genes asociados a la fimbria S; *sfaA* subunidad estructural, *sfaH* adhesina y *sfaS* subunidad menor. En cuanto al análisis realizado en la base de datos de eggNOG, uno de los genes ortólogos que predominaron y que además coincidió con la base de datos de NCBI fueron los genes *hlyA* y *hlyC*. De acuerdo con los diversos estudios informando la prevalencia de los principales factores de virulencia clásicos en cepas UPEC recopilados en este estudio, ver **ANEXO 10**, el factor necrotizante citotóxico *cnf-1* y el gen *hlyA* son unos de los genes más prevalentes en este tipo de estudios. De acuerdo con [Cantalapiedra y cols, 2021](#) los genes ortólogos, juegan un papel esencial en la genómica comparativa, debido a que son más confiables para transferir información funcional entre secuencias moleculares, ya que se espera que los genes ortólogos retengan la función con más frecuencia que los parálogos. Por lo que, la posible propuesta del esquema de identificación de cepas UPEC sería aquellos genes con función de daño tisular; *hlyA*, *hlyC*, *cnf-1*, adhesión; *papG-III*, *sfaH* y captación de hierro; *fyuA*. Se sugiere incorporar más cepas de referencia al estudio, y analizar la participación del resto de los genes encontrados en ambas bases de datos

(NCBI y eggNOG) y/u otros genes asociados a procesos metabólicos de UPEC, para encontrar aquellos altamente asociados a estas cepas, para su rápida detección y diagnóstico.

Conclusiones

En la primera sección experimental de este estudio se identificó al cepario de varones (100%, 24/24) cursando ITU como pertenecientes a la especie de *E. coli* al presentar el gen marcador *uidA*. La presencia de los genes clásicos de virulencia como *kpsMT K1*, *fliC*, *usp* y *focH*, sugieren que el cepario de varones está asociado a infecciones en vías altas. Los nuevos genes de virulencia; *c3509*, *c3686* y *chuA* identificaron que el 79% (19/24) del cepario pertenecían a cepas UPEC.

De entre los genes de resistencia determinados en este estudio los más prevalentes estaban asociados con la resistencia a sulfonamidas: *sul1* y *sul3*, aminoglucósidos: *aac(3')-II*, *aac(6')-Ib-cr*, nitrofurantoína: *nfsA* y *nfsB*, β-lactámicos: *CTX-M1*, trimetoprima/sulfametoxazol *dfrA1*, y tetraciclinas: *tet(A)* y *tet(B)*, la posible prevalencia de estos genes de resistencia pudiera asociarse a integrones de clase 1, distribuidos entre cepas UPEC. La presencia de cepas híbridas (UPEC/DEC) fue escasa, posiblemente, porque el origen de estas cepas es distinta al de los patotipos DEC, el encontrarse mayormente distribuidos dentro del filogrupo B2.

Los nuevos genes de virulencia; *c3509*, *c3686* y *chuA* reportados como específicos de UPEC, se encontraron en otros genomas CoEC, DEC y ExpEC, no considerándose exclusivos de cepas UPEC. Es posible que el esquema propuesto en este estudio: *hlyA*, *hlyC*, *cnf-1*, *papG-III*, *sfaH* y *fyuA* pueda identificar a este grupo extraintestinal. Es importante mencionar que los genes *hlyA*, *cnf-1* y *papG-III* fueron de poco prevalentes a nulo, en el cepario de varones. Sin embargo, este análisis no solo se limitó a estos genes, por lo que conviene encontrar la mejor combinación de los demás genes propuestos para una mejor identificación de cepas UPEC.

Perspectivas

1. Retomar los ensayos de conjugación y transformación en el cepario de varones.
2. Realizar ensayos de campos pulsados (PFGE) para la determinación del perfil plasmídico.
3. Completar y aplicar los esquemas de identificación por Johnson *et al.* 2015 y Spurbeck *et al.* 2012.
4. Determinar genes asociados a la captación de hierro.
5. Identificar al filogrupo G en las cepas UPEC de varones mexicanos.
6. Búsqueda de mutaciones cromosómicas en los genes *gyrA*, *gyrB*, *parC* y *parE*, que confieren resistencia a quinolonas.
7. Determinar la presencia de integrones de clase 1 en el cepario de varones.
8. Identificar otros mecanismos de resistencia que puedan conferir resistencia a antibióticos como bombas de expulsión a múltiples fármacos *oqxAB*, *qepA* y proteínas de membrana externa *OmpC*, *OmpF*, *TolC*, *OmpX*, *YddB* y *TosA*.
9. Determinar genes de resistencia a fosfomicina y ertapenem.
10. Identificar mutaciones en los genes *nfsA* y *nfsB* que confieren resistencia a quinolonas.
11. Profundizar en la importancia y el impacto de los nuevos genes reportados en este estudio para la identificación de cepas UPEC.
12. Encontrar la mejor combinación de los nuevos genes, encontrados en este estudio.
13. Aumentar el número de genomas de *E. coli* en el análisis de genómica comparativa.
14. Continuar el análisis de la base de datos elaborada con la página de VFDB, para otro posible esquema de identificación.
15. Anotación de los genomas en el programa Roary, para la identificación del core entre genomas y los genes compartidos.

Anexos

ANEXO 1. Distribución de los genes de virulencia clásicos y nuevos en el cepario de varones. **Anaranjado. Rojo. Azul:** gen presente. **Blanco:** gen ausente. **MM:** biomarcador molecular. **NG:** nuevos genes. **GC:** genes clásicos. **SD:** sin datos.

| ID CEPAS | EDAD | DETECCIÓN PCR | | | | | | | | FILOGRUPO |
|----------|------|---------------|-------|-------|------|-----|------|---------|------|-----------|
| | | MM | NG | | | GC | | | | |
| | | uidA | c3509 | c3686 | chuA | usp | fliC | kpsMT I | focH | |
| 102-I | 80 | ■ | | | ■ | | | ■ | | B2 |
| 103-I | 82 | ■ | ■ | | ■ | ■ | ■ | ■ | | B2 |
| 110-I | 79 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | B2 |
| 115-I | 60 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | B2 |
| 118-I | SD | ■ | ■ | | ■ | | | ■ | ■ | B2 |
| 126-I | 47 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | B2 |
| 128-I | 83 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | B2 |
| 129-I | 73 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | | B2 |
| 130-I | 81 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | | | B2 |
| 159-I | 91 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | | B2 |
| 161-I | 70 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | | B2 |
| 162-I | SD | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | | B2 |
| 167-I | 85 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | | B2 |
| 168-I | 84 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | | B2 |
| 117-I | 51 | ■ | ■ | | | | ■ | ■ | | C |
| 125-I | 60 | ■ | | | | | | | | C |
| 144-I | 55 | ■ | | | | | | ■ | | C |
| 174-I | 77 | ■ | | | | | | ■ | | C |
| 108-I | 65 | ■ | | ■ | ■ | | ■ | ■ | | E |
| 127-I | 46 | ■ | | | | | ■ | ■ | | NA |
| 154-I | 77 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | | ■ | | D |
| 173-I | 89 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | | ■ | | CLADO I |
| 132-I | 66 | ■ | ■ | ■ | | ■ | | ■ | | A |
| 155-I | 59 | ■ | | | | | ■ | ■ | | A |

ANEXO 2. Ochenta y tres posibles genes para identificar a UPEC, obtenidos del primer análisis comparativo de 5 genomas.

| NO. | GENES ESPECIFICOS CFT073 | CODIFICA |
|------------|-------------------------------------|--|
| 1 | <i>actS</i> | Activador de la amidasa ActS |
| 2 | <i>agaE</i> | Subunidad del transportador de N-acetilgalactosamina PTS |
| 3 | <i>agaF</i> | Galactosamina/N-acetilgalactosamina |
| 4 | <i>agaW</i> | Subunidad IIC del transportador de N-acetilgalactosamina |
| 5 | <i>agn43</i> | Adhesina autotransportadora Ag43 |
| 6 | <i>bcsR</i> | Proteína de biosíntesis de la celulosa BcsR |
| 7 | <i>c3712</i> | acil-AMP ligasa grasa |
| 8 | <i>c4222</i> | Proteína protectora del ADN DprA |
| 9 | <i>cdiA</i> | Efactor de inhibición dependiente del contacto ARNt nucleasa |
| 10 | <i>clbK</i> | Péptido híbrido no ribosomal de colibactina |
| 11 | <i>dpaA</i> | Ácido meso-diaminopimérico del peptidoglicano |
| 12 | <i>drpB</i> | Proteína de división celular DrpB |
| 13 | <i>focG</i> | Subunidad menor de la fimbria F1C |
| 14 | <i>focH</i> | Subunidad de la proteína fimbrial F1C |
| 15 | <i>grpA</i> | Sistema de utilización del propanediol alcohol deshidrogenasa GrpA |
| 16 | <i>grpB</i> | Sistema de utilización del propanediol fosfotransaclasa GrpB |
| 17 | <i>grpC</i> | Sistema de utilización del propanediol chaperona GrpC |
| 18 | <i>grpD</i> | Sistema de utilización del propanediol flavoproteína GrpD |
| 19 | <i>grpF</i> | Sistema de utilización del propanediol proteína de unión al hemo GrpF |
| 20 | <i>grpG</i> | Sistema de utilización del propanediol propionato quinasa GrpG |
| 21 | <i>grpI</i> | Proteína del microcompartimento de utilización del propanediol GrpI |
| 22 | <i>grpJ</i> | Sistema de utilización del propanediol aldehído deshidrogenasa GrpJ |
| 23 | <i>grpK</i> | Sistema de utilización del propanediol proteína hexamérica GrpK |
| 24 | <i>grpL</i> | Sistema de utilización del propanediol proteasa GrpL |
| 25 | <i>grpM</i> | Diol deshidratasa de radicales glicílicos GrpM |
| 26 | <i>grpN</i> | Enzima activadora de la diol deshidratasa de los radicales glicílicos GrpN |
| 27 | <i>grpO</i> | Sistema de utilización del propanediol permeasa GrpO |
| 28 | <i>grpP</i> | Sensor de utilización de propanediol histidina quinasa GrpP |
| 29 | <i>grpQ</i> | Factor de transcripción GrpQ, regulador de la respuesta a la utilización del propanediol |
| 30 | <i>grpR</i> | Sistema de utilización del propanediol metionina adenosiltransferasa GrpR |
| 31 | <i>grpS</i> | Sistema de utilización del propanediol proteína hexamérica GrpS |
| 32 | <i>hisIE</i> | Fosforibosil-AMP ciclohidrolasa/fosforibosil-ATP difosfatasa bifuncional HisIE |
| 33 | <i>hlyA</i> | Alfa-hemolisina |
| 34 | <i>hlyC</i> | Acetiltransferasa |
| 35 | <i>hmaA</i> | Receptor dependiente de TonB |
| 36 | <i>ilvG</i> | Subunidad catalítica de la acetolactato sintasa 2 |
| 37 | <i>ipuA</i> | ADN invertasa tipo tirosina IpuA |
| 38 | <i>ipuB</i> | ADN invertasa tipo tirosina IpuB |
| 39 | <i>ireA</i> | Receptor de sideróforos dependiente de TonB IreA |
| 40 | <i>iucA</i> | Aerobactina |
| 41 | <i>iucB</i> | Aerobactina |
| 42 | <i>iucC</i> | Aerobactina |

Continúa

| | | |
|----|------------------|--|
| 43 | <i>iucD</i> | Aerobactina |
| 44 | <i>iutA</i> | Receptor de aerobactina |
| 45 | <i>lysB</i> | Proteína del sistema de lisis tipo Rz LysB |
| 46 | <i>mchB</i> | Microcina H47 |
| 47 | <i>mchF</i> | Transportador de microcina peptidasa/subunidad de unión al ATP MchF |
| 48 | <i>mchl</i> | Proteína de inmunidad microcina H47 Mchl |
| 49 | <i>mcmA</i> | Microcina McmA |
| 50 | <i>modD</i> | Proteína ModD |
| 51 | <i>nanQ</i> | N-acetilneuraminato anomerasa |
| 52 | <i>paеA</i> | Proteína de la familia de las hemolisinas |
| 53 | <i>papC</i> | Ayudador fimbrias tipo P |
| 54 | <i>papE</i> | Subunidad menor fimbrias tipo P |
| 55 | <i>papF</i> | Proteína distal fimbrias tipo P |
| 56 | <i>papG-II</i> | Variante alélica de la adhesina fimbrias tipo P |
| 57 | <i>papH</i> | Subunidad menor fimbrias tipo P |
| 58 | <i>papI</i> | Regulador transcripcional del operón de la subunidad principal del pilus P |
| 59 | <i>papX</i> | Regulador transcripcional tipo HTH |
| 60 | <i>pgtA</i> | Regulador de la respuesta del sistema de dos componentes PgtA |
| 61 | <i>pgtB</i> | Sistema de dos componentes sensor de histidina quinasa PgtB |
| 62 | <i>pgtC</i> | Regulador del transporte de fosfoglicerato PgtC |
| 63 | <i>pgtP</i> | Transportador de fosfoglicerato PgtP |
| 64 | <i>pic</i> | Toxina autotransportadora de serina proteasa Pic |
| 65 | <i>pilV</i> | Sistema de shufflon transferencia conjugativa de plásmidos punta adhesiva PilV |
| 66 | <i>prfH</i> | Factor de liberación de la cadena peptídica H |
| 67 | <i>punC</i> | Transportador de nucleósidos de purina PunC |
| 68 | <i>punR</i> | Activador transcripcional de unión a ADN PunR |
| 69 | <i>sat</i> | Toxina serina proteasa autotransportada Sat |
| 70 | <i>selO</i> | Proteína adeniltransferasa SelO |
| 71 | <i>sinH</i> | Autotransportador inverso tipo intimin SinH |
| 72 | <i>sitB</i> | Transportador ABC de hierro/manganeso proteína de unión a ATP SitB |
| 73 | <i>sitC</i> | Transportador ABC de hierro/manganeso subunidad permeasa SitC |
| 74 | <i>tcpC</i> | NAD(+) hidrolasa TcpC |
| 75 | <i>timP</i> | Pequeña proteína tóxica de la membrana interna TimP |
| 76 | <i>tmaR</i> | Proteína de la familia DUF496 |
| 77 | <i>tosA</i> | Proteína hipotética |
| 78 | <i>traD</i> | Proteína de transferencia conjugal TraD |
| 79 | <i>upaG</i> | Adhesina autotransportadora trimérica UpaG |
| 80 | <i>vat</i> | Toxina autotransportadora vacuoladora Vat |
| 81 | <i>wzz(fepE)</i> | Regulador de la longitud del antígeno LPS O Wzz(fepE) |
| 82 | <i>ydaN</i> | Proteína YnaN |
| 83 | <i>zapG</i> | Proteína asociada al anillo Z ZapG |

ANEXO 3. Catorce posibles genes para identificar a UPEC, obtenidos del segundo análisis comparativo de 6 genomas ExPEC.

| NO. | GENES ESPECIFICOS CFT073 | CODIFICA |
|------------|-------------------------------------|---|
| 1 | <i>c3712</i> | acil-AMP ligasa grasa |
| 2 | <i>c4222</i> | Proteína protectora del ADN DprA |
| 3 | <i>focG</i> | Subunidad menor de la fimbria F1C |
| 4 | <i>focH</i> | Subunidad de la proteína fimbrial F1C |
| 5 | <i>ipuA</i> | ADN invertasa tipo tirosina IpuA |
| 6 | <i>ipuB</i> | ADN invertasa tipo tirosina IpuB |
| 7 | <i>mchB</i> | Microcina H47 |
| 8 | <i>mchF</i> | Transportador de microcina peptidasa/subunidad de unión al ATP MchF |
| 9 | <i>mchI</i> | Proteína de inmunidad microcina H47 MchI |
| 10 | <i>pic</i> | Toxina autotransportadora de serina proteasa Pic |
| 11 | <i>tosA</i> | Proteína hipotética |
| 12 | <i>upaG</i> | trimeric autotransporter adhesin UpaG |
| 13 | <i>yfdQ</i> | Proteína de la familia DUF2303 |
| 14 | <i>yclI</i> | Proteína de la familia Ylcl/YnfO |

ANEXO 4. Continuación de la Tabla 20. Genomas UPEC.

| NO. | Clasificación | Patotipo | Genoma | IDGenBank | Filogrupo |
|------------|----------------------|-----------------|----------------|------------------|------------------|
| 32 | | | NDM6 | CP083869.1 | A |
| 33 | | | EcPF16 | CP054224.1 | A |
| 34 | | | EC29 | CP060867.1 | A |
| 35 | | | JNQH497 | CP091925.1 | A |
| 36 | | | W60 | CP058342.1 | A |
| 37 | | | EC590 | CP016182.2 | A |
| 38 | | | EBJ001 | CP086336.1 | A |
| 39 | | | EC1390 | CP082330.1 | A |
| 40 | | | EC13 | CP060928.1 | A |
| 41 | | | EC26 | CP060880.1 | A |
| 42 | | | Y5 | CP013483.1 | A |
| 43 | | | 5CRE51 | CP021175.1 | A |
| 44 | | | EC931 | CP049118.1 | A |
| 45 | | | NDM3 | CP083880.1 | A |
| 46 | | | PK5074 | CP072802.1 | A |
| 47 | | | XH993 | CP019361.1 | A |
| 48 | | | EC4 | CP060974.1 | A |
| 49 | | | VR50 | CP011134.1 | A |
| 50 | | | CREC-532 | CP024830.1 | A |
| 51 | | | EC20 | CP084900.1 | A |
| 52 | | | EJN001 | CP086338.1 | A |
| 53 | | | 52148 | CP050382.1 | A |
| 54 | | | EC2 | CP058571.1 | A |
| 55 | | | SUISSEKPC3NDM5 | CP083701.1 | A |
| 56 | | | CREC-629 | CP024815.1 | A |
| 57 | | | KL53 | CP030919.1 | A |
| 58 | | | Combat13F7 | CP019245.1 | A |
| 59 | | | EC7 | CP060963.1 | A |
| 60 | | | EC42 | CP059119.1 | A |
| 61 | | | EC11 | CP060938.1 | A |
| 62 | | | TCBK21G178 | CP048935.1 | A |
| 63 | | | NDM5 | CP083872.1 | A |
| 64 | | | CI5 | CP011018.1 | B1 |
| 65 | | | EC21 | CP060899.1 | B1 |

Continúa

| | | | | | |
|-----|-------|------|---------------|------------|----|
| 66 | ExPEC | UPEC | ARL09/232 | CP049967.1 | B1 |
| 67 | | | EC6622 | CP096587.1 | B1 |
| 68 | | | EC5502 | CP092647.1 | B1 |
| 69 | | | 13KWH46 | CP019250.1 | B1 |
| 70 | | | EC12 | CP060933.1 | B1 |
| 71 | | | MS6193 | CP047405.1 | B1 |
| 72 | | | ECPF20 | CP071441.1 | B1 |
| 73 | | | EC18 | CP060914.1 | B1 |
| 74 | | | 13TMH22 | CP019256.1 | B1 |
| 75 | | | EC71 | CP085622.1 | B1 |
| 76 | | | EC10 | CP060946.1 | B1 |
| 77 | | | 779 | CP086220.1 | B1 |
| 78 | | | CRE1 | CP034399.1 | B1 |
| 79 | | | MSHS 472 | CP041302.1 | B1 |
| 80 | | | EC9 | CP060950.1 | B1 |
| 81 | | | EC15 | CP060919.1 | B1 |
| 82 | | | MS6192 | CP054940.1 | B1 |
| 83 | | | Combat2C1 | CP019243.1 | B2 |
| 84 | | | M45 | CP080119.1 | B2 |
| 85 | | | F11 | CP076123.1 | B2 |
| 86 | | | UTI89 | CP064825.1 | B2 |
| 87 | | | 1162C | CP051659.1 | B2 |
| 88 | | | O25b:H4 | CP015085.1 | B2 |
| 89 | | | EC28 | CP049101.1 | B2 |
| 90 | | | EcPF40 | CP054214.1 | B2 |
| 91 | | | EcPF5 | CP054236.1 | B2 |
| 92 | | | Ec55 | CP059130.1 | B2 |
| 93 | | | BH100L MG2017 | CP025716.1 | B2 |
| 94 | | | EcPF14 | CP054230.1 | B2 |
| 95 | | | EcPF18 | CP054219.1 | B2 |
| 96 | | | Ec32 | CP085619.1 | B2 |
| 97 | | | 81009 | CP021179.1 | B2 |
| 98 | | | UPEC_U013 | CP058596.1 | B2 |
| 99 | | | BH100N MG2017 | CP025703.1 | B2 |
| 100 | | | M24 | CP080120.1 | B2 |
| 101 | | | U15A | CP035720.1 | B2 |

Continua

| | | | | |
|-----|--|--------------|------------|----|
| 102 | | UT189-2 | CP062985.1 | B2 |
| 103 | | 1162invT2 | CP051663.1 | B2 |
| 104 | | 1162T7 | CP051661.1 | B2 |
| 105 | | NU14 | CP019777.1 | B2 |
| 106 | | SA186 | CP022730.1 | B2 |
| 107 | | UPEC 26-1 | CP016497.1 | B2 |
| 108 | | UPEC132 | CP040456.1 | B2 |
| 109 | | EC958 | HG941718.1 | B2 |
| 110 | | U13A | CP035477.1 | B2 |
| 111 | | ABU 83972 | CP001671.1 | B2 |
| 112 | | MNCRE44 | CP010876.1 | B2 |
| 113 | | UT189 | CP000243.1 | B2 |
| 114 | | EcPF7 | CP054232.1 | B2 |
| 115 | | UPEC-455U | CP049839.1 | B2 |
| 116 | | EC8 | CP060953.1 | B2 |
| 117 | | K56-43-un | CP053079.1 | B2 |
| 118 | | U12A | CP035476.1 | B2 |
| 119 | | THO-015 | AP022549.1 | B2 |
| 120 | | UPEC129 | CP071522.1 | B2 |
| 121 | | 536 | CP000247.1 | B2 |
| 122 | | JJ1887 | CP014316.1 | B2 |
| 123 | | BH100 MG2017 | CP025251.1 | B2 |
| 124 | | M70 | CP080118.1 | B2 |
| 125 | | 4/0 | CP023849.1 | B2 |
| 126 | | FDAARGOS_144 | CP014111.1 | B2 |
| 127 | | PA45B | CP021288.1 | B2 |
| 128 | | UT189-OCT ° | CP062228.1 | B2 |
| 129 | | 2/0 | CP023853.1 | B2 |
| 130 | | ATCC 700415 | CP022609.1 | B2 |
| 131 | | MS7163 | CP026853.1 | B2 |
| 132 | | uk_P46212 | CP013658.1 | B2 |
| 133 | | BH100 MG2014 | CP024650.2 | B2 |
| 134 | | CFT073 | AE014075.1 | B2 |
| 135 | | U14A | CP035516.1 | B2 |

Continua

| | | | | | |
|-----|------------|------------|--------------|------------|----|
| 136 | ExPEC | UPEC | clone D i2 | CP002211.1 | B2 |
| 137 | | | NIPH17_0036 | AP024561.1 | C |
| 138 | | | EC24 | CP060885.1 | C |
| 139 | | | 190 | CP020520.1 | C |
| 140 | | | YD786 | CP013112.1 | C |
| 141 | | | Ec1079 | CP081306.1 | C |
| 142 | | | EC19 | CP060908.1 | C |
| 143 | | | EC25 | CP035123.1 | C |
| 144 | | | Survcare253 | CP076305.1 | C |
| 145 | | | S65EC | CP036245.1 | C |
| 146 | | | EC45 | CP059125.1 | C |
| 147 | | | EC27 | CP060873.1 | C |
| 148 | | | Survcare321 | CP076301.1 | D |
| 149 | | | 103 | CP020495.1 | D |
| 150 | | | EBJ003 | CP086334.1 | D |
| 151 | | | 222 | CP020516.1 | D |
| 152 | | | EC1 | CP058574.1 | D |
| 153 | | | 50579417 | CP033884.1 | D |
| 154 | | | 28Eco12 | CP038505.1 | D |
| 155 | | | FDAARGOS_448 | CP023960.1 | D |
| 156 | | | THO-008 | AP022536.1 | D |
| 157 | 118UI | CP032515.1 | D | | |
| 158 | 18070201 | CP090074.1 | D | | |
| 159 | UMN026 | CU928163.2 | D | | |
| 160 | EcPF15 | CP054227.1 | D | | |
| 161 | XH990 | CP019359.1 | E | | |
| 162 | THO-010 | AP022540.1 | E | | |
| 163 | Combat1119 | CP021726.1 | E | | |
| 164 | EC1515 | CP021844.1 | E | | |
| 165 | EC974 | CP021840.1 | E | | |
| 166 | MS6198 | CP015834.1 | F | | |
| 167 | 201609 | CP048107.1 | F | | |
| 168 | CLSC36 | CP041300.1 | F | | |
| 169 | IAI39 | CU928164.2 | F | | |
| 170 | M160133 | CP022164.1 | F | | |
| 171 | MSHS 133 | CP041304.1 | G | | |

ANEXO 5. Relación entre los filogrupos y los 94 posibles nuevos genes para la identificación de cepas UPEC.

| No. | *Gen | Filogrupo | | | | | | Total general | |
|-----|-----------------|-----------|----|----|---|---|---|---------------|----|
| | | A | B1 | B2 | C | D | E | | F |
| 1 | <i>hlyC</i> | | 1 | 17 | 1 | | | | 19 |
| 2 | <i>hlyA</i> | | 1 | 16 | 1 | | | | 18 |
| 3 | <i>clbN</i> | | 1 | 15 | | | | | 16 |
| 4 | <i>clbB</i> | | 1 | 14 | | | | | 15 |
| 5 | <i>cnf1</i> | | 1 | 11 | 1 | | | | 13 |
| 6 | <i>papG-III</i> | | 1 | 11 | | | | | 12 |
| 7 | <i>sfaH</i> | | 1 | 9 | | | | | 10 |
| 8 | <i>cdil</i> | | 1 | 8 | 1 | | | | 10 |
| 9 | <i>sfaS</i> | | 1 | 8 | | | | | 9 |
| 10 | <i>sfaA</i> | | 1 | 8 | | | | | 9 |
| 11 | <i>cah</i> | | | 7 | 1 | | | 1 | 9 |
| 12 | <i>fnlA</i> | 2 | | 3 | | 2 | | | 7 |
| 13 | <i>yfdX2</i> | 2 | | | | | | | 2 |
| 14 | <i>yfdX1</i> | 2 | | | | | | | 2 |
| 15 | <i>trx-GI</i> | 2 | | | | | | | 2 |
| 16 | <i>srfJ</i> | | | 2 | | | | | 2 |
| 17 | <i>rfbK1</i> | 1 | 1 | | | | | | 2 |
| 18 | <i>reiD</i> | | | 2 | | | | | 2 |
| 19 | <i>psiE-GI</i> | 2 | | | | | | | 2 |
| 20 | <i>mef(B)</i> | | | | | | 2 | | 2 |
| 21 | <i>kefB-GI</i> | 2 | | | | | | | 2 |
| 22 | <i>iolT2</i> | | | 2 | | | | | 2 |
| 23 | <i>iolT1</i> | | | 2 | | | | | 2 |
| 24 | <i>iolR</i> | | | 2 | | | | | 2 |
| 25 | <i>iolI1</i> | | | 2 | | | | | 2 |
| 26 | <i>iolG2</i> | | | 2 | | | | | 2 |
| 27 | <i>iolG1</i> | | | 2 | | | | | 2 |
| 28 | <i>iolE</i> | | | 2 | | | | | 2 |
| 29 | <i>iolD</i> | | | 2 | | | | | 2 |
| 30 | <i>iolC</i> | | | 2 | | | | | 2 |
| 31 | <i>iolB</i> | | | 2 | | | | | 2 |
| 32 | <i>iolA</i> | | | 2 | | | | | 2 |
| 33 | <i>hxsD</i> | | 2 | | | | | | 2 |
| 34 | <i>hxsB</i> | | 2 | | | | | | 2 |
| 35 | <i>hsp20-GI</i> | 2 | | | | | | | 2 |
| 36 | <i>hsp20</i> | 2 | | | | | | | 2 |
| 37 | <i>hdeD-GI</i> | 2 | | | | | | | 2 |
| 38 | <i>gguA</i> | 1 | | | | 1 | | | 2 |
| 39 | <i>estX</i> | | | | | | 2 | | 2 |
| 40 | <i>clpK</i> | 2 | | | | | | | 2 |
| 41 | <i>yhjQ</i> | | | 1 | | | | | 1 |
| 42 | <i>vasA</i> | | | 1 | | | | | 1 |
| 43 | <i>trbI</i> | | | 1 | | | | | 1 |
| 44 | <i>trbG</i> | | | 1 | | | | | 1 |
| 45 | <i>trbB</i> | | | 1 | | | | | 1 |
| 46 | <i>trbA</i> | | | 1 | | | | | 1 |
| 47 | <i>traY</i> | | | 1 | | | | | 1 |

Continúa

| | | | | | | | |
|----|--------------|---|---|--|---|---|---|
| 48 | <i>traX</i> | | 1 | | | | 1 |
| 49 | <i>traW</i> | | 1 | | | | 1 |
| 50 | <i>traV</i> | | 1 | | | | 1 |
| 51 | <i>traR</i> | | 1 | | | | 1 |
| 52 | <i>traQ</i> | | 1 | | | | 1 |
| 53 | <i>traN</i> | | 1 | | | | 1 |
| 54 | <i>traL</i> | | 1 | | | | 1 |
| 55 | <i>traK</i> | | 1 | | | | 1 |
| 56 | <i>tral</i> | | 1 | | | | 1 |
| 57 | <i>traG</i> | | 1 | | | | 1 |
| 58 | <i>traF</i> | | 1 | | | | 1 |
| 59 | <i>traE</i> | | 1 | | | | 1 |
| 60 | <i>traC</i> | | 1 | | | | 1 |
| 61 | <i>taaP</i> | | 1 | | | | 1 |
| 62 | <i>senB</i> | | 1 | | | | 1 |
| 63 | <i>rumB</i> | | 1 | | | | 1 |
| 64 | <i>rpsV</i> | | 1 | | | | 1 |
| 65 | <i>rfbG</i> | | 1 | | | | 1 |
| 66 | <i>repA</i> | | 1 | | | | 1 |
| 67 | <i>psiB</i> | | 1 | | | | 1 |
| 68 | <i>ppnK</i> | | 1 | | | | 1 |
| 69 | <i>pemK</i> | | | | 1 | | 1 |
| 70 | <i>pemI</i> | | | | 1 | | 1 |
| 71 | <i>nfaA</i> | 1 | | | | | 1 |
| 72 | <i>mviN</i> | | 1 | | | | 1 |
| 73 | <i>mrkA</i> | | | | 1 | | 1 |
| 74 | <i>mdoD</i> | | 1 | | | | 1 |
| 75 | <i>ksgA</i> | | 1 | | | | 1 |
| 76 | <i>iatD</i> | | | | | 1 | 1 |
| 77 | <i>iatC</i> | | | | | 1 | 1 |
| 78 | <i>hydA</i> | | 1 | | | | 1 |
| 79 | <i>hmaA</i> | | 1 | | | | 1 |
| 80 | <i>hflB</i> | | 1 | | | | 1 |
| 81 | <i>groES</i> | | 1 | | | | 1 |
| 82 | <i>fdxH</i> | | 1 | | | | 1 |
| 83 | <i>dipZ</i> | | 1 | | | | 1 |
| 84 | <i>dctP</i> | 1 | | | | | 1 |
| 85 | <i>cybH</i> | | 1 | | | | 1 |
| 86 | <i>clpV</i> | | 1 | | | | 1 |
| 87 | <i>ccdB</i> | | 1 | | | | 1 |
| 88 | <i>ccdA</i> | | 1 | | | | 1 |
| 89 | <i>ble</i> | 1 | | | | | 1 |
| 90 | <i>aztC</i> | | 1 | | | | 1 |
| 91 | <i>aztB</i> | | 1 | | | | 1 |
| 92 | <i>aztA</i> | | 1 | | | | 1 |
| 93 | <i>arsH</i> | | | | 1 | | 1 |
| 94 | <i>afaF</i> | 1 | | | | | 1 |

ANEXO 6. Distribución de los 54 genomas UPEC, obtenidos de la base de datos de NCBI.

| No. | Genoma | Filogrupo | Total general |
|-----|---------------|-----------|---------------|
| 1 | EcPF16 | A | 8 |
| 2 | KL53 | A | |
| 3 | VR50 | A | |
| 4 | 5CRE51 | A | |
| 5 | EC1390 | A | |
| 6 | EC2 | A | |
| 7 | EC931 | A | |
| 8 | Y5 | A | |
| 9 | CI5 | B1 | 5 |
| 10 | EcPF20 | B1 | |
| 11 | MSHS 472 | B1 | |
| 12 | 13KWH46 | B1 | |
| 13 | CRE1 | B1 | |
| 14 | 536 | B2 | 31 |
| 15 | ABU 83972 | B2 | |
| 16 | ATCC 700415 | B2 | |
| 17 | BH100 MG2017 | B2 | |
| 18 | BH100L MG2017 | B2 | |
| 19 | BH100N MG2017 | B2 | |
| 20 | CFT073 | B2 | |
| 21 | clon D i2 | B2 | |
| 22 | EC958 | B2 | |
| 23 | EcPF14 | B2 | |
| 24 | EcPF18 | B2 | |
| 25 | EcPF5 | B2 | |
| 26 | EcPF7 | B2 | |
| 27 | F11 | B2 | |
| 28 | NU14 | B2 | |
| 29 | UPEC 26-1 | B2 | |
| 30 | UPEC_U013 | B2 | |
| 31 | UPEC129 | B2 | |
| 32 | UPEC132 | B2 | |
| 33 | UTI89 | B2 | |
| 34 | 81009 | B2 | |
| 35 | 4/0 | B2 | |
| 36 | Combat2C1 | B2 | |
| 37 | EC28 | B2 | |
| 38 | FDAARGOS_144 | B2 | |
| 39 | JJ1887 | B2 | |
| 40 | K56-43-un | B2 | |
| 41 | M24 | B2 | |
| 42 | M45 | B2 | |
| 43 | M70 | B2 | |
| 44 | PA45B | B2 | |
| 45 | S65EC | C | 1 |
| 46 | 118UI | D | 4 |
| 47 | 28Eco12 | D | |
| 48 | EC1 | D | |
| 49 | Survcare321 | D | |
| 50 | Combat1119 | E | 3 |
| 51 | EC1515 | E | |
| 52 | EC974 | E | |
| 53 | CLSC36 | F | 2 |
| 54 | M160133 | F | |

ANEXO 7. Relación entre los grupos filogenéticos y los 144 posibles nuevos genes para la identificación de cepas UPEC, obtenidos de la base de datos de eggNOG.

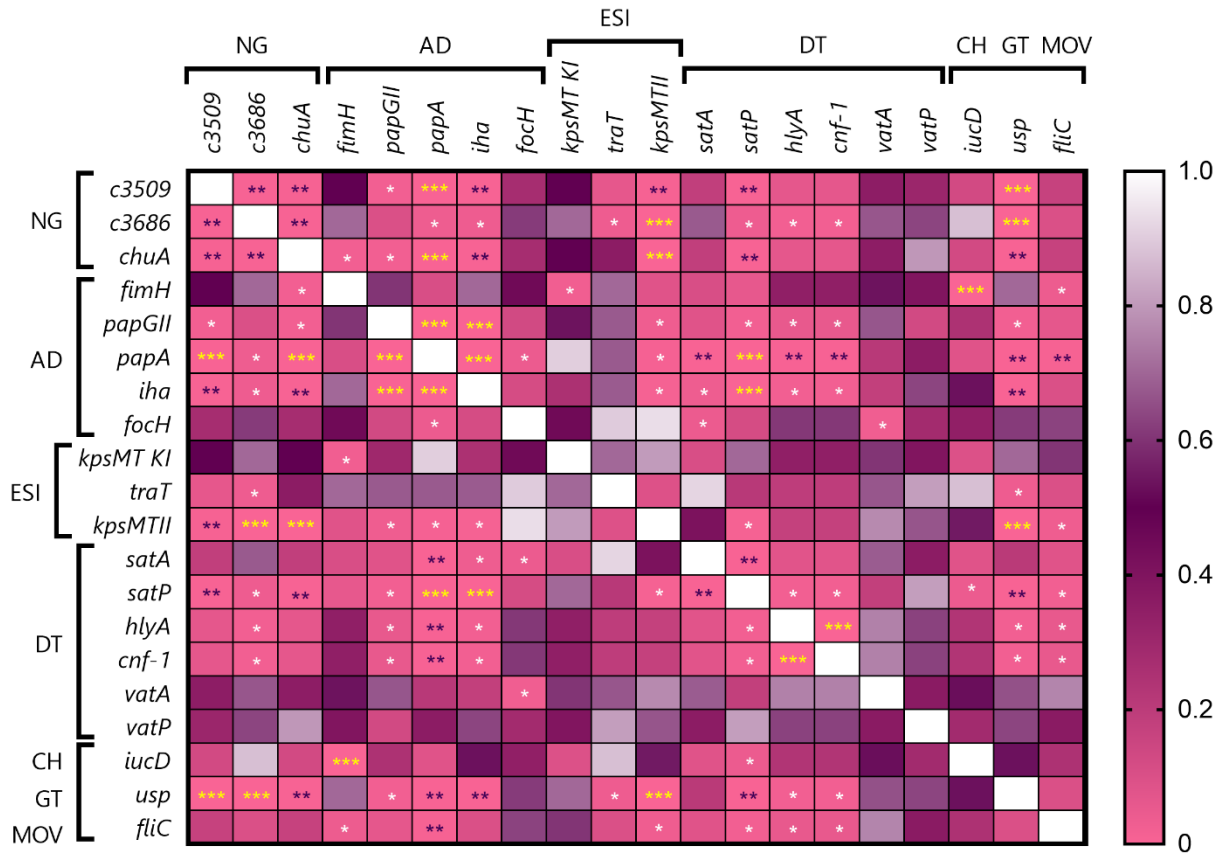
| No. | *Gen | Filogrupo | | | | | | | Total general | |
|-----|-------------------|-----------|----|----|---|---|---|---|---------------|----|
| | | A | B1 | B2 | C | D | E | F | | G |
| 1 | <i>M1-336</i> | 10 | 10 | 1 | 3 | 8 | 3 | 5 | | 40 |
| 2 | <i>walR</i> | | | 20 | 1 | | | | | 21 |
| 3 | <i>hlyA</i> | | | 20 | 1 | | | | | 21 |
| 4 | <i>hlyB</i> | | | 20 | 1 | | | | | 21 |
| 5 | <i>hlyC</i> | | | 20 | 1 | | | | | 21 |
| 6 | <i>hlyD</i> | | | 20 | 1 | | | | | 21 |
| 7 | <i>tktB</i> | | | 16 | 1 | | | | | 17 |
| 8 | <i>cobW</i> | | | 15 | | 1 | | 1 | | 17 |
| 9 | <i>cll</i> | | | 13 | 1 | | | | | 14 |
| 10 | <i>fnlB</i> | 2 | 1 | 4 | | 2 | | 1 | | 10 |
| 11 | <i>ydeT</i> | 3 | 1 | 3 | 1 | | | | 1 | 9 |
| 12 | <i>yut</i> | | | 8 | | | | | | 8 |
| 13 | <i>yciY</i> | 7 | | | | | | | | 7 |
| 14 | <i>virB5</i> | 2 | 2 | | | 1 | | | | 5 |
| 15 | <i>MA20_43575</i> | | | 4 | 1 | | | | | 5 |
| 16 | <i>Y0084</i> | | 1 | | | | 3 | | | 4 |
| 17 | <i>rfbE</i> | 4 | | | | | | | | 4 |
| 18 | <i>pyrL</i> | 1 | | 2 | | | | | 1 | 4 |
| 19 | <i>mrfJ</i> | | | | | | | 4 | | 4 |
| 20 | <i>ganQ</i> | 3 | | | | | | 1 | | 4 |
| 21 | <i>ganB</i> | 3 | | | | | | 1 | | 4 |
| 22 | <i>cycB</i> | 3 | | | | | | 1 | | 4 |
| 23 | <i>bglY</i> | 3 | | | | | | 1 | | 4 |
| 24 | <i>aorA</i> | 1 | 3 | | | | | | | 4 |
| 25 | <i>abf2</i> | 1 | | | | | 3 | | | 4 |
| 26 | <i>Z012_10445</i> | | 1 | 1 | | 1 | | | | 3 |
| 27 | <i>yprA</i> | | | 3 | | | | | | 3 |
| 28 | <i>VY92_07350</i> | | | | | 3 | | | | 3 |
| 29 | <i>VY92_07345</i> | | | | | 3 | | | | 3 |
| 30 | <i>scrA</i> | 1 | 2 | | | | | | | 3 |
| 31 | <i>rgpB</i> | 1 | | 2 | | | | | | 3 |
| 32 | <i>prcC</i> | | | 2 | | | | 1 | | 3 |
| 33 | <i>mod</i> | 3 | | | | | | | | 3 |
| 34 | <i>mntA</i> | | | 3 | | | | | | 3 |
| 35 | <i>mmsA</i> | 1 | | 2 | | | | | | 3 |
| 36 | <i>hin</i> | 3 | | | | | | | | 3 |
| 37 | <i>Z012_10240</i> | | | 2 | | | | | | 2 |
| 38 | <i>Z012_06055</i> | 1 | | 1 | | | | | | 2 |
| 39 | <i>yngI</i> | | | 2 | | | | | | 2 |
| 40 | <i>yesI</i> | | | 2 | | | | | | 2 |
| 41 | <i>XK27_03330</i> | | | | | | 2 | | | 2 |
| 42 | <i>VY92_08710</i> | | | 2 | | | | | | 2 |
| 43 | <i>tniB</i> | 1 | | 1 | | | | | | 2 |
| 44 | <i>srjI</i> | | | 2 | | | | | | 2 |
| 45 | <i>soj1</i> | | 1 | | 1 | | | | | 2 |
| 46 | <i>pvdI</i> | | | 2 | | | | | | 2 |
| 47 | <i>pbuO</i> | 1 | | | | 1 | | | | 2 |

Continua

ANEXO 8. Distribución de los 79 genomas UPEC.

| No. | Genoma | Filogrupo | Total general |
|-----|---------------|-----------|---------------|
| 1 | EcPF16 | A | 12 |
| 2 | KL53 | A | |
| 3 | VR50 | A | |
| 4 | 52148 | A | |
| 5 | 5CRE51 | A | |
| 6 | Combat13F7 | A | |
| 7 | EC1390 | A | |
| 8 | EC2 | A | |
| 9 | EC29 | A | |
| 10 | EC931 | A | |
| 11 | PK5074 | A | |
| 12 | Y5 | A | |
| 13 | ARL09/232 | B1 | 10 |
| 14 | C15 | B1 | |
| 15 | EcPF20 | B1 | |
| 16 | MSHS 472 | B1 | |
| 17 | 779 | B1 | |
| 18 | 13KWH46 | B1 | |
| 19 | 13TMH22 | B1 | |
| 20 | CRE1 | B1 | |
| 21 | MS6192 | B1 | |
| 22 | MS6193 | B1 | |
| 23 | 536 | B2 | 36 |
| 24 | ABU 83972 | B2 | |
| 25 | ATCC 700415 | B2 | |
| 26 | BH100 MG2014 | B2 | |
| 27 | BH100 MG2017 | B2 | |
| 28 | BH100L MG2017 | B2 | |
| 29 | BH100N MG2017 | B2 | |
| 30 | CFT073 | B2 | |
| 31 | EC958 | B2 | |
| 32 | EcPF14 | B2 | |
| 33 | EcPF18 | B2 | |
| 34 | EcPF40 | B2 | |
| 35 | EcPF5 | B2 | |
| 36 | EcPF7 | B2 | |
| 37 | F11 | B2 | |
| 38 | MNCRE44 | B2 | |
| 39 | NU14 | B2 | |
| 40 | O25b:H4 | B2 | |
| 41 | SA186 | B2 | |
| 42 | UPEC132 | B2 | |
| 43 | UPEC 26-1 | B2 | |
| 44 | UPEC-455U | B2 | |
| 45 | UPEC_U013 | B2 | |
| 46 | UTI89 | B2 | |
| 47 | 81009 | B2 | |
| 48 | 2/0 | B2 | |
| 49 | 4/0 | B2 | |
| 50 | Combat2C1 | B2 | |
| 51 | EC28 | B2 | |
| 52 | FDAARGOS_144 | B2 | |
| 53 | FDAARGOS_448 | B2 | |
| 54 | JJ1887 | B2 | |
| 55 | K56-43-un | B2 | |
| 56 | M24 | B2 | |
| 57 | M45 | B2 | |
| 58 | M70 | B2 | |
| 59 | Ec1079 | C | 4 |
| 60 | S65EC | C | |
| 61 | Survcare253 | C | |
| 62 | Survcare321 | C | |
| 63 | EcPF15 | D | 8 |
| 64 | UMN026 | D | |
| 65 | 103 | D | |
| 66 | 222 | D | |
| 67 | 18070201 | D | |
| 68 | 118UI | D | |
| 69 | 28Eco12 | D | |
| 70 | EC1 | D | |
| 71 | EC974 | E | 3 |
| 72 | Combat1119 | E | |
| 73 | EC1515 | E | |
| 74 | IAI39 | F | 5 |
| 75 | 201609 | F | |
| 76 | CLSC36 | F | |
| 77 | M160133 | F | |
| 78 | MS6198 | F | |
| 79 | MSHS 133 | G | 1 |

ANEXO 9. Heatmap generado según la asociación estadística entre los genes de virulencia en el cepario de varones. Los valores estadísticamente significativos se indican como sigue: *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$ y * $p < 0,05$.



ANEXO 10. Recopilación de estudios de cepas UPEC tanto en Latino América como en Europa de factores de virulencia asociados adhesión, adquisición de hierro, evasión del sistema inmune, misceláneos y movilidad.

| Año | Autor | País | Función / FV (FV) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------|--------------------|----------|-------------------|-------------|-----------------|--------------|-------------|-------------|--------------|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-----------------|-----------------|------------|------------|-----------------|----------------|---------------|-----|
| | | | Adhesión | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | <i>fimH</i> | <i>papC</i> | <i>papG</i> -.. | <i>papEF</i> | <i>papA</i> | <i>papG</i> | <i>agn43</i> | <i>papF</i> | <i>papAH</i> | <i>yfcV</i> | <i>sfaS</i> | <i>focG</i> | <i>papG</i> -.. | <i>sfa/fo..</i> | <i>sfa</i> | <i>pap</i> | <i>afa/dr..</i> | <i>sfa/foc</i> | <i>papG-l</i> | |
| 2017 | Gao | China | 92% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2018 | Paniagua-Contreras | México | 75% | | | 30% | 20% | | | | | | | | 4% | | | | | | | |
| | Ramírez-Castillo | México | 83% | 50% | | | | | | 58% | | | 42% | 8% | | | | | | | | |
| 2019 | Ali | Pakistán | 100% | 48% | 45% | 24% | 13% | 4% | | | | | | 13% | 13% | 4% | | | | | 13% | 4% |
| | Bravata-Alcantara | México | 86% | 34% | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Shahbazi | Irán | 100% | 42% | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2020 | Staji | Irán | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 13% | 16% |
| | Xicontecatl | México | 100% | | 76% | | | | | 47% | | | | | | 11% | | | | | | |
| | Baldiris-Ávila | Colombia | 97% | | | | | | | | 26% | | | | | | | | | | | |
| | Huelgas | México | 92% | | | | | 55% | | | | | | | | | | | | | | |
| | Monroy-Pérez | México | 86% | 31% | | | 15% | | | | | | | 6% | | | | | | | 11% | |
| 2021 | Ylmaz | Turquía | | 26% | | 33% | | | | | | | | | | | | | | | 11% | |
| | Miri Hyun | Corea | 95% | 70% | 73% | 13% | 67% | 48% | | | | | 7% | 8% | 3% | | | | | | | |
| | Rezatofighi | Irán | 63% | 22% | 7% | 21% | | | | 20% | | | 12% | 1% | 12% | 14% | | | | | 16% | 5% |

| Año | Autor | País | Función / FV (FV) | | | | | | | | | | | |
|------|--------------------|----------|--------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | | | Adquisición hierro | | | | | | | | | | | |
| | | | <i>fyuA</i> | <i>iutA</i> | <i>iucD</i> | <i>feoB</i> | <i>chuA</i> | <i>tonB</i> | <i>iroN</i> | <i>irp2</i> | <i>iutD</i> | <i>sitA</i> | <i>iucC</i> | <i>ireA</i> |
| 2017 | Gao | China | 75% | | | | | | 98% | | | | | 10% |
| 2018 | Paniagua-Contreras | México | 51% | | | | 92% | | | | | | 62% | 24% |
| | Ramírez-Castillo | México | 58% | | | | | 46% | | | | | | |
| 2019 | Ali | Pakistán | 24% | 55% | | | 49% | | | | | | | |
| | Bravata-Alcantara | México | | 64% | | | | | | | | | | |
| | Shahbazi | Irán | | | | | | | 48% | | | | 50% | |
| 2020 | Staji | Irán | | | 36% | | | | | | | | | |
| | Xicontecatl | México | 64% | | | | 89% | | | | 64% | | | |
| | Baldiris-Ávila | Colombia | 81% | 75% | | | | | | | | | | |
| | Huelgas | México | | | 88% | | | | | | | | | |
| | Monroy-Pérez | México | | | | | | | 33% | 65% | | | | |
| 2021 | Ylmaz | Turquía | | | 49% | | | | | | | | | |
| | Miri Hyun | Corea | 97% | 75% | | | | | | | | | | |
| | Rezatofighi | Irán | 60% | 59% | | | | | | | | | | |

| Año | Autor | País | Función / FV (FV) | | | | Misceláneos <i>usp</i> | Movilidad <i>flc</i> |
|------|--------------------|----------|-------------------|--------------------------|-------------|-------------------|---------------------------|-------------------------|
| | | | <i>traT</i> | Evasión respuesta inmune | | <i>kpsMTII K1</i> | | |
| | | | | <i>kpsMTII</i> | <i>OmpT</i> | | | |
| 2017 | Gao | China | | | | | 15% | |
| 2018 | Paniagua-Contreras | México | 73% | | | | | |
| | Ramírez-Castillo | México | | 38% | | | | |
| 2019 | Ali | Pakistán | | 26% | | 14% | | |
| | Bravata-Alcantara | México | 62% | | | | | |
| | Shahbazi | Irán | | | | 52% | | |
| | Xicontecatl | México | | | | | 71% | |
| 2020 | Baldiris-Ávila | Colombia | 59% | 67% | 67% | 3% | | |
| | Huelgas | México | 63% | 58% | | | | |
| | Monroy-Pérez | México | | 72% | 24% | | | |
| 2021 | Miri Hyun | Corea | 78% | 60% | | 32% | | |
| | Rezatofighi | Irán | 42% | 33% | | 8% | | |

Bibliografía

- Acharya, D., Sullivan, M. J., Duell, B. L., Goh, K. G. K., Katupitiya, L., Gosling, D., Chamoun, M. N., Kakkanat, A., Chattopadhyay, D., Crowley, M., Crossman, D. K., Schembri, M. A., & Ulett, G. C. (2019). Rapid Bladder Interleukin-10 Synthesis in Response to Uropathogenic *Escherichia coli* Is Part of a Defense Strategy Triggered by the Major Bacterial Flagellar Filament FlhC and Contingent on TLR5. *mSphere*, 4(6), e00545-19. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00545-19>.
- Akrami, F., Rajabnia, M., & Pournajaf, A. (2019). Resistance integrons; A Mini review. *Caspian journal of internal medicine*, 10(4), 370–376. <https://doi.org/10.22088/cjim.10.4.370>.
- Ali, I., Rifaqat, Z., Ahmed, I., Tariq, F., Graham, S. E., Salzman, E., ... & Dasti, J. I. (2019). Phylogeny, sequence-typing and virulence profile of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) strains from Pakistan. *BMC Infectious Diseases*, 19(1), 1-9.
- Ambite, I., Butler, D., Wan, M. L. Y., Rosenblad, T., Tran, T. H., Chao, S. M., & Svanborg, C. (2021). Molecular determinants of disease severity in urinary tract infection. *Nature reviews. Urology*, 18(8), 468–486. <https://doi.org/10.1038/s41585-021-00477-x>.
- Andreu, Antonia. (2005). "Patogenia de Las Infecciones Del Tracto Urinario." *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 23: 15–21. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X05752101>.
- Asadi Karam, M R, Mehri Habibi, and Saeid Bouzari. (2019). "Urinary Tract Infection: Pathogenicity, Antibiotic Resistance and Development of Effective Vaccines against Uropathogenic *Escherichia Coli*." *Molecular immunology* 108: 56–67.
- Baldiris-Avila, R., Montes-Robledo, A. & Buelvas-Montes, Y. (2020). Phylogenetic Classification, Biofilm-Forming Capacity, Virulence Factors, and Antimicrobial Resistance in Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC). *Curr Microbiol* 77, 3361–3370. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02173-2>.
- Ballesteros-Monrreal, Manuel G *et al.* (2020). "Virulence and Resistance Determinants of Uropathogenic *Escherichia coli* Strains Isolated from Pregnant and Non-Pregnant Women from Two States in Mexico." *Infection and drug resistance* 13: 295–310.
- Bao, Zhihao *et al.* (2017). "Structure and Mechanism of a Group-I Cobalt Energy Coupling Factor Transporter." *Cell Research* 27(5): 675–87. <https://doi.org/10.1038/cr.2017.38>.
- Basu, Shreya, and Mandira Mukherjee. (2019). "Conjugal Transfer of PMQR from Uropathogenic *E.Coli* under High Ciprofloxacin Selection Pressure Generates GyrA Mutation." *Microbial pathogenesis* 132: 26–29.
- Behzadi, Payam. (2017). "Uropathogenic *Escherichia coli* and Fimbrial Adhesins Virulome." In *Urinary Tract Infection*, eds. Tomas Jarzembowski, Agnieszka Dacia, and Maria Alicja Dębska-Ślizień. Rijeka: IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71374>.

- Belmont-Monroy, L., Ribas-Aparicio, R. M., González-Villalobos, E., Pérez-Ramos, J. A., Aparicio-Ozores, G., Eslava-Campos, C. A., Hernández-Chiñas, U., Aquino-Andrade, A., Balcázar, J. L., & Molina-López, J. (2022). Molecular typification of *Escherichia coli* from community-acquired urinary tract infections in Mexico. *International journal of antimicrobial agents*, 60(4), 106667. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2022.106667>.
- Behzadi. (2021). "The Role of Gram-Negative Bacteria in Urinary Tract Infections: Current Concepts and Therapeutic Options BT - Advances in Microbiology, Infectious Diseases and Public Health: Volume 15." In ed. Gianfranco Donelli. Cham: Springer International Publishing, 35–69. https://doi.org/10.1007/5584_2020_566.
- Bravata-Alcantara, J. C., Bello-Lopez, J. M., Cortes-Ortiz, I. A., Mendez-Velazquez, J. J., Aviles-Soto, B., Quintas-Granados, L. I., ... & Martinez, M. S. (2019). Distribution of virulence and antimicrobial resistance genes in phylogenetic groups of *Escherichia coli* strains isolated from Mexican patients with urinary infection. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 12(3).
- Breland, Erin J, Allison R Eberly, and Maria Hadjifrangiskou. (2017). "An Overview of Two-Component Signal Transduction Systems Implicated in Extra-Intestinal Pathogenic *E. coli* Infections." *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 7. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fcimb.2017.00162>.
- Brons, Jolanda K. *et al.* (2020). "Fast Identification of *Escherichia coli* in Urinary Tract Infections Using a Virulence Gene Based PCR Approach in a Novel Thermal Cycler." *Journal of Microbiological Methods* 169(October 2019): 105799. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2019.105799>.
- Cantalapiedra, C. P., Hernández-Plaza, A., Letunic, I., Bork, P., & Huerta-Cepas, J. (2021). eggNOG-mapper v2: Functional Annotation, Orthology Assignments, and Domain Prediction at the Metagenomic Scale. *Molecular biology and evolution*, 38(12), 5825–5829. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab293>.
- Che, You *et al.* (2021). "Conjugative Plasmids Interact with Insertion Sequences to Shape the Horizontal Transfer of Antimicrobial Resistance Genes." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 118(6): e2008731118. <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.2008731118>.
- Clermont, Olivier *et al.* (2019). "Characterization and Rapid Identification of Phylogroup G in *Escherichia Coli*, a Lineage with High Virulence and Antibiotic Resistance Potential." *Environmental Microbiology* 21(8): 3107–17. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14713>.
- Consuegra, Jessika *et al.* (2021). "Insertion-Sequence-Mediated Mutations Both Promote and Constrain Evolvability during a Long-Term Experiment with Bacteria." *Nature Communications* 12(1): 980. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21210-7>.
- Croxen, Matthew A, and B Brett Finlay. (2010). "Molecular Mechanisms of *Escherichia coli* Pathogenicity." *Nature Reviews Microbiology* 8(1): 26–38. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2265>.
- Cusumano, C. K., Hung, C. S., Chen, S. L., & Hultgren, S. J. (2010). Virulence plasmid harbored by

- uropathogenic *Escherichia coli* functions in acute stages of pathogenesis. *Infection and immunity*, 78(4), 1457–1467. <https://doi.org/10.1128/IAI.01260-09>.
- Dębska-Ślizień, Payam Behzadi ED1 - Tomas Jarzembowski ED2 - Agnieszka Daca ED3 - Maria Alicja. (2018). "Uropathogenic *Escherichia coli* and Fimbrial Adhesins Virulome." In Rijeka: IntechOpen, Ch. 5. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71374>.
- Decano, Arun Gonzales, and Tim Downing. (2019). "An *Escherichia coli* ST131 Pangenome Atlas Reveals Population Structure and Evolution across 4,071 Isolates." *Scientific Reports* 9(1): 17394. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54004-5>.
- De Souza, Gabrielle Messias *et al.* (2019). "Comparative Study Of Genetic Diversity, Virulence Genotype, Biofilm Formation And Antimicrobial Resistance Of Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) Isolated From Nosocomial And Community Acquired Urinary Tract Infections." *Infection and drug resistance* 12: 3595–3606.
- Dehbanipour, R *et al.* (2019). "High Prevalence of Fluoroquinolone-Resistant *Escherichia coli* Strains Isolated from Urine Clinical Samples." *Journal of preventive medicine and hygiene* 60(1): E25–30.
- Desvaux, Mickaël *et al.* (2020). "Pathogenicity Factors of Genomic Islands in Intestinal and Extraintestinal *Escherichia Coli*." *Frontiers in Microbiology* 11. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2020.02065>.
- Drago, L. (2019). Cloranfenicol resucitado: un viaje desde la resistencia a los antibióticos en las infecciones oculares hasta la biopelícula y la microbiota ocular. *Microorganismos*, 7 (9), 278. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7090278>.
- Esmaeel, Noura E *et al.* (2020). "Detection of Chromosomal and Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Among *Escherichia coli* Isolated from Urinary Tract Infection Cases; Zagazig University Hospitals, Egypt." *Infection and drug resistance* 13: 413–21. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32104013>.
- Etefia, Etefia. (2021). "Virulence Factors of Uropathogenic *Escherichia Coli*." In *Escherichia Coli*, ed. Dr. Marjanca Starčić Erjavec. Rijeka: IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.99891>.
- Fleece, M. E., Pholwat, S., Mathers, A. J., & Houpt, E. R. (2018). Molecular diagnosis of antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. *Expert review of molecular diagnostics*, 18(3), 207–217. <https://doi.org/10.1080/14737159.2018.1439381>.
- Forsyth Valerie *et al.* (2022). "Rapid Growth of Uropathogenic *Escherichia coli* during Human Urinary Tract Infection." *mBio* 9(2): e00186-18. <https://doi.org/10.1128/mBio.00186-18>.
- Flores-Mireles, Ana L, Jennifer N Walker, Michael Caparon, and Scott J Hultgren. (2015). "Urinary Tract Infections: Epidemiology, Mechanisms of Infection and Treatment Options." *Nature reviews. Microbiology* 13(5): 269–84.
- Garza-Montúfar ME, Treviño-Valdez PD, De la Garza-Salinas LH. (2018). Resistencia bacteriana y

comorbilidades presentes en pacientes urológicos ambulatorios con urocultivos positivos. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 56(4):347-353.

- Geurtsen, Jeroen *et al.* (2022). "Genomics and Pathotypes of the Many Faces of *Escherichia Coli*." *FEMS Microbiology Reviews*: fuac031. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuac031>.
- Gómez-Bueno, C., González-Calo, I., & Rodríguez-García-de-Cortázar, A. (2022). Sexo sin protección: contradicciones y lógicas de acción. *Revista Española De Sociología*, 31(4), a133. <https://doi.org/10.22325/fes/res.2022.133>.
- Ghazvini, H. , Taheri, K. , Edalati, E. , Miri, A. , Sedighi, M. & Mirkalantari, S. (2019). Virulence factors and antimicrobial resistance in uropathogenic *Escherichiacoli* strains isolated from cystitis and pyelonephritis . *Turkish Journal of Medical Sciences* , 49 (1) , 361-367 . Retrieved from <https://dergipark.org.tr/en/pub/tbtkmedical/issue/45750/577827>.
- Ghaly, Timothy M *et al.* (2021). "The Natural History of Integrons." *Microorganisms* 9(11). <https://www.mdpi.com/2076-2607/9/11/2212>.
- Ghaly, Timothy M, Jemma L Geoghegan, Sasha G Tetu, and Michael R Gillings. (2020). "The Peril and Promise of Integrons: Beyond Antibiotic Resistance." *Trends in Microbiology* 28(6): 455–64. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0966842X19303178>.
- Goh, Kelvin G. K. *et al.* (2017). "Genome-Wide Discovery of Genes Required for Capsule Production by Uropathogenic *Escherichia Coli*." *mBio* 8(5): e01558-17. <https://doi.org/10.1128/mBio.01558-17>.
- Goldstone, Robert J *et al.* (2014). "Genomic Characterisation of an Endometrial Pathogenic *Escherichia coli* Strain Reveals the Acquisition of Genetic Elements Associated with Extra-Intestinal Pathogenicity." *BMC genomics* 15(1): 1075.
- González-Villalobos, E., Ribas-Aparicio, R. M., Belmont-Monroy, L., Aparicio-Ozores, G., Manjarrez-Hernández, H. Á., Gavilanes-Parra, S., Balcázar, J. L., & Molina-López, J. (2022). Identification and characterization of class 1 integrons among multidrug-resistant uropathogenic *Escherichia coli* strains in Mexico. *Microbial pathogenesis*, 162, 105348. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105348>.
- Harmer, Christopher J, and Ruth M Hall. (2020). "IS26 Family Members IS257 and IS1216 Also Form Cointegrates by Copy-In and Targeted Conservative Routes." *mSphere* 5(1).
- Herrera Arias, Fanny, Jesús Santos Buelga, and Raquel Villamizar Gallardo. (2019). "Primer Reporte de *Escherichia coli* Productora de Toxina Shiga No O157 Que Codifica El Gen de La Enterohemolisina En Carne Cruda En Colombia." *Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN)* 69(1 SE-Artículo General): 59–67. http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_alan/article/view/17172.
- Hyun, M., Lee, J. Y., & Kim, H. A. (2021). Differences of virulence factors, and antimicrobial susceptibility according to phylogenetic group in uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from Korean patients. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 20(1), 77. <https://doi.org/10.1186/s12941-021-00481-4>.

- Jayanthi S and Santhiya K and Nisha Nandhini J and Prakrithi P. (2021). Exploring the Potential Association between PAI and CRISPR CAS Region in E.coli CFT073-An In silico Approach. European Union Digital Library. <https://doi.org/10.4108/eai.7-12-2021.2314578>.
- Jhang, JF y Kuo, HC (2017). Avances recientes en la infección urinaria recurrente desde la patogenia y los biomarcadores hasta la prevención. *Ci ji yi xue za zhi = Revista médica Tzu-chi*, 29 (3), 131–137. https://doi.org/10.4103/tcmj.tcmj_53_17.
- Johnson, J. R., Porter, S., Johnston, B., Kuskowski, M. A., Spurbeck, R. R., Mobley, H. L., & Williamson, D. A. (2015). Host Characteristics and Bacterial Traits Predict Experimental Virulence for *Escherichia coli* Bloodstream Isolates From Patients With Urosepsis. *Open forum infectious diseases*, 2(3), ofv083. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofv083>
- Kaper, James B, James P Nataro, and Harry L T Mobley. (2004). "Pathogenic *Escherichia Coli*." *Nature Reviews Microbiology* 2(2): 123–40. <https://doi.org/10.1038/nrmicro818>.
- Karch, Helge *et al.* (2012). "The Enemy within Us: Lessons from the 2011 European *Escherichia coli* O104:H4 Outbreak." *EMBO molecular medicine* 4(9): 841–48. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22927122>.
- Kaur, Navneet, Ashwini Agarwal, and Malika Grover. (2022). "We Are IntechOpen , the World ' s Leading Publisher of Open Access Books Built by Scientists , for Scientists TOP 1 % Uropathogenic *Escherichia Coli*." *IntechOpen*.
- Kimberly R. McBride & J. Dennis Fortenberry (2010) Sexualidad anal heterosexual y comportamientos sexuales anales: una revisión, *The Journal of Sex Research*, 47:2-3, 123-136, DOI: [10.1080/00224490903402538](https://doi.org/10.1080/00224490903402538).
- King Jane *et al.* (2015). "Phenotypic Heterogeneity in Expression of the K1 Polysaccharide Capsule of Uropathogenic *Escherichia coli* and Downregulation of the Capsule Genes during Growth in Urine." *Infection and Immunity* 83(7): 2605–13. <https://doi.org/10.1128/IAI.00188-15>.
- Kot, Barbara. (2019). "Antibiotic Resistance Among Uropathogenic *Escherichia Coli*." *Polish journal of microbiology* 68(4): 403–15. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31880885>.
- Krieger, J. N., & Thumbikat, P. (2016). Bacterial Prostatitis: Bacterial Virulence, Clinical Outcomes, and New Directions. *Microbiology spectrum*, 4(1), 10.1128/microbiolspec.UTI-0004-2012. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.UTI-0004-2012>.
- Lara FBM, Nery DR, de Oliveira PM, Araujo ML, Carvalho FRQ, Messias-Silva LCF, Ferreira LB, Faria-Junior C and Pereira AL. (2017). Virulence Markers and Phylogenetic Analysis of *Escherichia coli*.
- Lavigne, Jean-Philippe *et al.* (2016). "Resistance and Virulence Potential of Uropathogenic *Escherichia coli* Strains Isolated from Patients Hospitalized in Urology Departments: A French Prospective Multicentre Study." *Journal of Medical Microbiology* 65(6): 530–37. <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.000247>.
- Levison, Matthew E, and Donald Kaye. (2013). "Treatment of Complicated Urinary Tract Infections

With an Emphasis on Drug-Resistant Gram-Negative Uropathogens." *Current Infectious Disease Reports* 15(2): 109–15. <https://doi.org/10.1007/s11908-013-0315-7>.

Lindstedt, Bjørn-Arne, Misti D Finton, Davide Porcellato, and Lin T Brandal. (2018). "High Frequency of Hybrid *Escherichia coli* Strains with Combined Intestinal Pathogenic *Escherichia coli* (IPEC) and Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) Virulence Factors Isolated from Human Faecal Samples." *BMC infectious diseases* 18(1): 544.

Lloyd, A. L., Rasko, D. A., & Mobley, H. L. (2007). Defining genomic islands and uropathogen-specific genes in uropathogenic *Escherichia coli*. *Journal of bacteriology*, 189(9), 3532–3546. <https://doi.org/10.1128/JB.01744-06>.

López-Banda, D. A., Carrillo-Casas, E. M., Leyva-Leyva, M., Orozco-Hoyuela, G., Manjarrez-Hernández, Á. H., Arroyo-Escalante, S., Moncada-Barrón, D., Villanueva-Recillas, S., Xicohtencatl-Cortes, J., & Hernández-Castro, R. (2014). Identification of virulence factors genes in *Escherichia coli* isolates from women with urinary tract infection in Mexico. *BioMed research international*, 2014, 959206. <https://doi.org/10.1155/2014/959206>.

Luna-Guevara, J J *et al.* (2019). "The Role of Pathogenic *E. coli* in Fresh Vegetables: Behavior, Contamination Factors, and Preventive Measures" ed. Karl Drlica. *International Journal of Microbiology* 2019: 2894328. <https://doi.org/10.1155/2019/2894328>.

Mahapatra, Ashoka *et al.* (2022). "Ciprofloxacin-Resistant Gram-Negative Isolates from a Tertiary Care Hospital in Eastern India with Novel GyrA and ParC Gene Mutations." *Medical Journal Armed Forces India* 78(1): 24–31. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377123719301054>.

Mann, Riti *et al.* (2017). "Metabolic Adaptations of Uropathogenic *E. coli* in the Urinary Tract." *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 7. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fcimb.2017.00241>.

Millan, Alvaro San *et al.* (2017). "Fitness Costs of Plasmids: A Limit to Plasmid Transmission." *Microbiology Spectrum* 5(5): 5.5.02. <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/microbiolspec.MTBP-0016-2017>.

Moreira-Lima, L., Silva, B. N. M. D., Barbosa, G., & Barreiro, E. J. (2020). β -lactam antibiotics: An overview from a medicinal chemistry perspective. *European journal of medicinal chemistry*, 208, 112829. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112829>.

Miranda-Estrada, L. I., Ruíz-Rosas, M., Molina-López, J., Parra-Rojas, I., González-Villalobos, E., & Castro-Alarcón, N. (2017). Relationship between virulence factors, resistance to antibiotics and phylogenetic groups of uropathogenic *Escherichia coli* in two locations in Mexico. Relación entre factores de virulencia, resistencia a antibióticos y los grupos filogenéticos de *Escherichia coli* uropatógena en dos localidades de México. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 35(7), 426–433. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2016.02.021>.

Munhoz, Danielle D *et al.* (2021). "Hybrid Atypical Enteropathogenic and Extraintestinal *Escherichia coli* (AEPEC/ExPEC) BA1250 Strain: A Draft Genome." *Pathogens (Basel, Switzerland)* 10(4):

475. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33919948>.

- Munkhdelger, Y., Gunregjav, N., Dorjpurev, A., Juniichiro, N., & Sarantuya, J. (2017). Detection of virulence genes, phylogenetic group and antibiotic resistance of uropathogenic *Escherichia coli* in Mongolia. *Journal of infection in developing countries*, 11(1), 51–57. <https://doi.org/10.3855/jidc.7903>.
- Noie Oskouie, Arezoo *et al.* (2019). "A Relationship Between O-Serotype, Antibiotic Susceptibility and Biofilm Formation in Uropathogenic *Escherichia Coli*." *Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.)* 25(6): 951–58.
- Paniagua-Contreras, G. L., Hernández-Jaimes, T., Monroy-Pérez, E., Vaca-Paniagua, F., Díaz-Velásquez, C., Uribe-García, A., & Vaca, S. (2017). Comprehensive expression analysis of pathogenicity genes in uropathogenic *Escherichia coli* strains. *Microbial pathogenesis*, 103, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.12.008>.
- Park, Min. (2020). " Comparison of Fluoroquinolone Resistance Determinants in Uropathogenic *Escherichia coli* between 2 Time Periods of 1989 and 2010–2014 at Gangwon Province in Korea ." *Biomedical Science Letters* 26(2): 120–26.
- Parvez, Sorwer Alam. (2019). "Virulence Factors of Uropathogenic *E. coli*." In ed. Dolilur Rahman ED1 - Payam Behzadi. Rijeka: IntechOpen, Ch. 2. <https://doi.org/10.5772/intechopen.79557>.
- Patel, Isha R *et al.* (2018). "Draft Genome Sequences of the *Escherichia coli* Reference (ECOR) Collection." *Microbiology Resource Announcements* 7(14): e01133-18. <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/MRA.01133-18>.
- Poey, M. E., & Laviña, M. (2014). Integrons in uropathogenic *Escherichia coli* and their relationship with phylogeny and virulence. *Microbial pathogenesis*, 77, 73–77. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2014.11.002>.
- Porcheron G, Garenaux A, Proulx J, Sabri M y Dozois CM (2013) Transporte y regulación de hierro, cobre, zinc y manganeso en enterobacterias patógenas: correlaciones entre cepas, sitio de infección y la importancia relativa de los diferentes transportes de metales sistemas de virulencia. *Frente. Célula. Infectar. microbiol.* 3:90 . doi: 10.3389/fcimb.2013.00090.
- Rahman, M. M., Hossain, M. M. K., Rubaya, R., Halder, J., Karim, M. E., Bhuiya, A. A., Khatun, A., & Alam, J. (2022). Association of Antibiotic Resistance Traits in Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) Isolates. *The Canadian journal of infectious diseases & medical microbiology = Journal canadien des maladies infectieuses et de la microbiologie medicale*, 2022, 4251486. <https://doi.org/10.1155/2022/4251486>.
- Ramadan, A.A., Abdelaziz, N.A., Amin, M.A. *et al.* (2019). Novel *bla*CTX-M variants and genotype-phenotype correlations among clinical isolates of extended spectrum beta lactamase-producing *Escherichia coli*. *Sci Rep* 9, 4224. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39730-0>.
- Ramírez-Castillo, F. Y., Moreno-Flores, A. C., Avelar-González, F. J., Márquez-Díaz, F., Harel, J., & Guerrero-Barrera, A. L. (2018). An evaluation of multidrug-resistant *Escherichia coli* isolates in urinary tract infections from Aguascalientes, Mexico: cross-sectional study. *Annals of*

- clinical microbiology and antimicrobials*, 17(1), 34. <https://doi.org/10.1186/s12941-018-0286-5>.
- Ramírez-Santoyo, María Rosa, Cecilia Fragoso Reyes, Luz Elena, and Vidales Rodríguez. (2020). "Características de Patogenicidad En *Escherichia coli* Aislada de Tracto Intestinal." 14(2): 62–66.
- Rasko, David A *et al.* (2008). "The Pangenome Structure of *Escherichia Coli*: Comparative Genomic Analysis of *E. Coli* Commensal and Pathogenic Isolates." *Journal of bacteriology* 190(20): 6881–93.
- Reigstad, Christopher S, Scott J Hultgren, and Jeffrey I Gordon. (2007). "Functional Genomic Studies of Uropathogenic *Escherichia Coli* and Host Urothelial Cells When Intracellular Bacterial Communities Are Assembled *." *Journal of Biological Chemistry* 282(29): 21259–67. <https://doi.org/10.1074/jbc.M611502200>.
- Reitzer, Larry, and Philippe Zimmern. (2019). "Rapid Growth and Metabolism of Uropathogenic *Escherichia coli* in Relation to Urine Composition." *Clinical Microbiology Reviews* 33(1): e00101-19.
- Rezatofighi, S. E., Mirzarazi, M., & Salehi, M. (2021). Virulence genes and phylogenetic groups of uropathogenic *Escherichia coli* isolates from patients with urinary tract infection and uninfected control subjects: a case-control study. *BMC infectious diseases*, 21(1), 361. <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06036-4>.
- Rihtar, E., Žgur Bertok, D. y Podlesek, Z. (2020). El gen de proteína específica uropatógena *usp* de *Escherichia coli* y *Salmonella bongori* es un miembro novedoso de los reglamentos TyrR y H-NS. *Microorganismos*, 8 (3), 330. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030330>.
- Riley, Lee W. (2020). "Distinguishing Pathovars from Nonpathovars: *Escherichia Coli*." *Microbiology spectrum* 8(4).
- Roberts, MC, Schwarz, S. (2009). Mecanismos de resistencia a tetraciclina y cloranfenicol. En: Mayers, DL (eds) Resistencia a los fármacos antimicrobianos. Enfermedad infecciosa. Prensa Humana. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-180-2_15.
- Robinson, Anne E, James R Heffernan, and Jeffrey P Henderson. (2018). "The Iron Hand of Uropathogenic *Escherichia Coli*: The Role of Transition Metal Control in Virulence." *Future microbiology* 13(7): 745–56. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29870278>.
- Rodríguez-Beltrán, Jerónimo *et al.* (2020). "Genetic Dominance Governs the Evolution and Spread of Mobile Genetic Elements in Bacteria." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 117(27): 15755–62. <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.2001240117>.
- Rozwadowski, M., & Gawel, D. (2022). Molecular Factors and Mechanisms Driving Multidrug Resistance in Uropathogenic *Escherichia coli*-An Update. *Genes*, 13(8), 1397. <https://doi.org/10.3390/genes13081397>.
- Sarowska, Jolanta *et al.* (2019). "Virulence Factors, Prevalence and Potential Transmission of

Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* Isolated from Different Sources: Recent Reports." *Gut pathogens* 11: 10.

Sheldon, I Martin *et al.* (2010). "Specific Strains of *Escherichia coli* Are Pathogenic for the Endometrium of Cattle and Cause Pelvic Inflammatory Disease in Cattle and Mice." *PloS one* 5(2): e9192.

Smillie, Chris *et al.* (2010). "Mobility of Plasmids." *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 74(3): 434–52. <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/MMBR.00020-10>.

Spurbeck, RR, Dinh, PC, Jr, Walk, ST, Stapleton, AE, Hooton, TM, Nolan, LK, Kim, KS, Johnson, JR y Mobley, HL (2012). Los aislados de *Escherichia coli* que portan *vat*, *fyuA*, *chuA* e *yfcV* colonizan eficientemente el tracto urinario. *Infección e inmunidad*, 80 (12), 4115–4122. <https://doi.org/10.1128/IAI.00752-12>

Sultan I, Rahman S, Jan AT, Siddiqui MT, Mondal AH and Haq QMR. (2018). Antibiotics, Resistome and Resistance Mechanisms: A Bacterial Perspective. *Front. Microbiol.* 9:2066. doi: 10.3389/fmicb.2018.02066.

Sun, DH, Lv, DF, Mi, ZH, Hu, LQ, Huang, Y., Gao, X. y Weng, XB (2020). Investigación de determinantes de resistencia a antibióticos y factores de virulencia de *Escherichia coli* uropatógena. *The Journal of antibiotics*, 73 (5), 314–319. <https://doi.org/10.1038/s41429-020-0284-7>.

Smithson, A., Ramos, J., Niño, E. *et al.* (2019). Characteristics of febrile urinary tract infections in older male adults. *BMC Geriatr* 19, 334. <https://doi.org/10.1186/s12877-019-1360-3>.

Sora, Valerio M *et al.* (2021). "Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*: Virulence Factors and Antibiotic Resistance." *Pathogens (Basel, Switzerland)* 10(11).

Sorlozano-Puerto, Antonio *et al.* (2020). "Characterization of Fosfomycin and Nitrofurantoin Resistance Mechanisms in *Escherichia coli* Isolated in Clinical Urine Samples." *Antibiotics (Basel, Switzerland)* 9(9).

Spaulding, Caitlin N *et al.* (2018). "Precision Antimicrobial Therapeutics: The Path of Least Resistance?" *npj Biofilms and Microbiomes* 4(1): 4. <https://doi.org/10.1038/s41522-018-0048-3>.

Tabasi, M., Karam, M. R., Habibi, M., Mostafavi, E., & Bouzari, S. (2016). Genotypic Characterization of Virulence Factors in *Escherichia coli* Isolated from Patients with Acute Cystitis, Pyelonephritis and Asymptomatic Bacteriuria. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*, 10(12), DC01–DC07. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/21379.9009>.

Tewawong, N., Kowaboot, S., Pimainog, Y., Watanagul, N., Thongmee, T., & Poovorawan, Y. (2020). Distribution of phylogenetic groups, adhesin genes, biofilm formation, and antimicrobial resistance of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from hospitalized patients in Thailand. *PeerJ*, 8, e10453. <https://doi.org/10.7717/peerj.10453>.

Varani, Alessandro *et al.* (2021). "The IS6 Family, a Clinically Important Group of Insertion

- Sequences Including IS26." *Mobile DNA* 12(1): 11. <https://doi.org/10.1186/s13100-021-00239-x>.
- Whitfield C. (2009). Structure and Assembly of Escherichia coli Capsules. *EcoSal Plus*, 3(2), 10.1128/ecosalplus.4.7.3. <https://doi.org/10.1128/ecosalplus.4.7.3>
- Wiles, T. J., Kulesus, R. R., & Mulvey, M. A. (2008). Origins and virulence mechanisms of uropathogenic Escherichia coli. *Experimental and molecular pathology*, 85(1), 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2008.03.007>.
- Xicohtencatl-Cortes, J., Cruz-Córdova, A., Cázares-Domínguez, V., Escalona-Venegas, G., Zavala-Vega, S., Arellano-Galindo, J., Romo-Castillo, M., Hernández-Castro, R., Ochoa, S. A., & Luna-Pineda, V. M. (2019). Uropathogenic Escherichia coli strains harboring tosA gene were associated to high virulence genes and a multidrug-resistant profile. *Microbial pathogenesis*, 134, 103593. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103593>.
- Yamaji, Reina *et al.* (2018). "A Population-Based Surveillance Study of Shared Genotypes of Escherichia coli Isolates from Retail Meat and Suspected Cases of Urinary Tract Infections." *mSphere* 3(4).
- Yilmaz, E. Ş., & Aslantaş, Ö. (2020). Phylogenetic Group/Subgroups Distributions, Virulence Factors, and Antimicrobial Susceptibility of Escherichia coli Strains from Urinary Tract Infections in Hatay. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 53, e20190429. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0429-2019>.
- Yun, K. W., Kim, H. Y., Park, H. K., Kim, W., & Lim, I. S. (2014). Virulence factors of uropathogenic Escherichia coli of urinary tract infections and asymptomatic bacteriuria in children. *Journal of microbiology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi*, 47(6), 455–461. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2013.07.010>.
- Zhao, R., Shi, J., Shen, Y., Li, Y., Han, Q., Zhang, X., Gu, G., & Xu, J. (2015). Phylogenetic Distribution of Virulence Genes Among ESBL-producing Uropathogenic Escherichia coli Isolated from Long-term Hospitalized Patients. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*, 9(7), DC01–DC4. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2015/13234.6157>.
- Zychlinsky Scharff, Anna *et al.* (2019). "Sex Differences in IL-17 Contribute to Chronicity in Male versus Female Urinary Tract Infection." *JCI insight* 5(13).