



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA
“ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES”

IDENTIFICACIÓN FILOGENÉTICA DE *Escherichia coli* UROPATÓGENAS EN
MUJERES ATENDIDAS EN EL INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA
“ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES”

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:
INFECTOLOGÍA

PRESENTA:

DR. EDER EMILIO CABRERA SANCHEZ

PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN
DR. JESUS ROBERTO VILLAGRANA ZESATI

DIRECTOR DE TESIS

DR. Jesús Roberto Villagrana Zesati
DRA. Addy Cecilia Helguera Repetto



INPer

MÉXICO., D.F.

2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

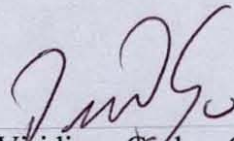
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

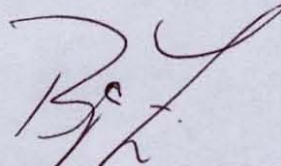
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AUTORIZACION DE TESIS

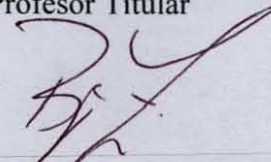
IDENTIFICACIÓN FILOGENETICA DE *Escherichia coli* UROPATOGENA EN
MUJERES ATENDIDAS EN EL INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA
"ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES"



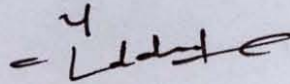
Dra. Viridiana Gorbea Chávez
Directora de Educación en Ciencias de la Salud



Dr. Jesús Roberto Villagrana Zesati
Profesor Titular



Dr. Jesús Roberto Villagrana Zesati
Director de Tesis



Dra. Addy Cecilia Helguera Repetto.
Asesor Metodológico

INDICE

I.	TÍTULO.....	5
II.	MARCO TEORICO.....	6
III.	DEFINICION DEL PROBLEMA.....	12
IV.	JUSTIFICACIÓN.....	13
V.	OBJETIVO GENERAL.....	14
VI.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
VII.	TIPOS DE ESTUDIO.....	14
VIII.	DEFINICIÓN DEL UNIVERSO.....	15
IX.	PROCEDIMIENTO.....	16
X.	METODOLOGIA.....	16
XI.	SIEMBRA DE LA MUESTRA Y EXTRACCION DE DNA TOTAL.....	16
XII.	REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA.....	17
XIII.	RESULTADO GRAFICAS.....	20
XIV.	ANALISIS MOLECULAR.....	26
XV.	RESULTADO.....	32
XVI.	DISCUSION.....	33
XVII.	CONCLUSIONES.....	34
XVIII.	BIBLIOGRAFIA	35

AGRADECIMIENTOS:

Agradezco a la vida la oportunidad de poder estar realizando uno más de las metas que me he propuesto como parte de mi vida.

Quisiera agradecer alguien muy especial ya que ha sido mi inspiración para seguir luchando por mis sueños a mi hermana (Johana †)

A muchas personas que me han apoyado en este proyecto de vida, en especial a mis padres Emilio y Silvia, así como a mis hermanas Miroslava, Cristal, Nisaya que siempre han estado ahí ayudándome con su carisma y confianza que me han dado. Y claro sin olvidar a una persona muy importante a mi abuela Isabel.

Quisiera agradecer también a mis compañeros de residencia, Ana y Gabriela. Ya que los tres hemos estado en las buenas y en las malas y hemos logrado terminar esta especialidad. Y claro sin olvidar a mis adscritos al Dr. Jesús R. Villagrana, Dra. Noemi G. Plazola, Dr. Rafael Galván. Dra Cecilia Raya, por haberme transmitido sus conocimientos los cuales llevare muy presente al igual que mi asesora de tesis la Dra. Cecilia Helguera, que colaboro exhaustivamente con este trabajo. A todos ellos agradecerle por todo las buenas enseñanza y agradables momentos.

Agradezco al INPerIER por haberme permitido realizar mi tesis ya que es parte del proyecto Identificación y caracterización temprana de *E. coli* multirresistente en mujeres embarazadas y establecimiento de un control de su transmisión vertical. Ya que este proyecto es financiado por dicho instituto.

AUTORIZACION DE TESIS

IDENTIFICACIÓN FILOGENETICA DE *Escherichia coli* UROPATOGENA EN
MUJERES ATENDIDAS EN EL INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA
"ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES"

Dra. Viridiana Gorbea Chávez
Director de Educación en Ciencias de la Salud

Dr. Jesús Roberto Villagrana Zesati
Profesor Titular

Dr. Jesús Roberto Villagrana Zesati
Director de Tesis

Dra. Addy Cecilia Helguera Repetto.
Asesor Metodológico

I.TÍTULO

Identificación Filogenética de cepas *Escherichia coli* uropatogena en mujeres atendidas en el Instituto Nacional De Perinatología “Isidro Espinosa de Los Reyes”

III. MARCO TEÓRICO

Los primeros estudios realizados sobre genes de virulencia de *E. coli* en el mundo fueron realizados en Estados Unidos y Japón y han proporcionado un conocimiento más detallado acerca de este problema de salud pública. Estas investigaciones detectaron los primeros genes de virulencia de *E. coli* mediante una técnica molecular conocida como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Dicha técnica se ha convertido en la base para el diagnóstico de enfermedades e identificación de genotipos, es usada fundamentalmente para la amplificación de genes, y desde sus inicios ha ganado suma importancia por su gran especificidad, eficiencia y fidelidad. Con el paso de los años se ha desarrollado la PCR Multiplex que consiste en amplificar varias secuencias en blanco deseadas en una sola reacción (1, 5)

Las técnicas de diagnóstico molecular, que indican si las cepas aisladas de distintos enfermos provienen de un antecesor reciente común (es decir, pertenecen a la misma clona), facilitan el reconocimiento de los brotes adquiridos en la comunidad o nosocomiales de dichas infecciones. Entre estas técnicas figuran la electroforesis en gel de campos pulsados, la ribotipificación, la reacción en cadena de la polimerasa y la tipificación de secuencias multilocus (1)

Muchos estudios se han realizado en todo el mundo acerca de infección de vías urinarias (IVUs) sin embargo en Latinoamérica hay muy pocas investigaciones moleculares, con excepción de Brasil que ha hecho varias con respecto a los factores de virulencia que presenta la UPEC tanto en IVUs en población infantil como en adultos y comparando con otras cepas de *E. coli* causantes de otros tipos de infecciones extra intestinales. Los resultados encontrados en estos trabajos indicaron la presencia de genes de virulencia en *Escherichia coli* Uropatógena (UPEC) y su intervención en la patogénesis de las infecciones del tracto urinario no complicadas, complicadas y recurrentes. (2).

La infección de vías urinarias representa un serio problema de salud a escala mundial, su etiología es de origen bacteriano y afecta sobre todo a las mujeres. La constituye una amplia variedad de entidades clínicas que van de infecciones prácticamente subclínicas (ej. bacteriuria asintomática) hasta aquellas que ponen en riesgo la vida de la paciente (pielonefritis, absceso perinefrítico y sepsis). Del 50 al 60% de las mujeres en edad adulta presentarán un episodio durante su vida y 25% de ellas desarrollarán recurrencia (8) Los agentes causales más comunes son los bacilos Gram negativos, entre los que predomina *Escherichia coli*, cuyos estudios de prevalencia arrojan porcentajes de más de 80% en las infecciones agudas de pacientes sin alteraciones morfológicas del aparato urinario(7) La infección urinaria es una de las complicaciones médicas más frecuentes en el embarazo, únicamente superada por la anemia y la cervicovaginitis, si no es diagnosticada y adecuadamente tratada, puede llevar a un incremento significativo en la morbilidad en la madre y en el feto.

Las cepas de UPEC del grupo B2 producen el 69 % de las cistitis, 67 % de las pielonefritis y el 72 % de las sepsis con punto de partida en el tracto urinario (6) En el Instituto Nacional de

Perinatología, el Departamento de Infectología reportó en su último informe anual un total de 9272 uro cultivo, de los cuales el 89% resultó positivo para *E. coli*, seguido de un 13% de aislamiento de *Streptococcus agalactiae*. Cabe mencionar que los urocultivo que se realizan son en su mayoría de pacientes que cursan con una sintomatología de infección en vías urinarias(7)

Una de las variantes clínicas de importancia durante el embarazo es la Bacteriuria Asintomática (BA), si no se trata puede evolucionar a una cistouretritis o pielonefritis. Diversos estudios han mostrado que la prevalencia general de la BA durante el embarazo va del 4 al 7%. En el INPerIER la prevalencia determinada de BA en pacientes gestantes ha sido del 5.3%. (7)

De acuerdo con el boletín Epidemiológico de la Secretaría de Salud, en el 2013, las Infecciones en vías urinarias se mantienen como una de las primeras causas de morbilidad. En nuestra población. *Escherichia coli* es el principal agente causal con más del 90% de este tipo de infecciones, seguida por otros géneros bacterianos, como son *Klebsiella*, *Proteus* y *Staphylococcus*. Dentro de las repercusiones perinatales se ha reportado que existe una relación importante entre la bacteriuria asintomática (BA) y el bajo peso al nacer; es decir, una mujer embarazada con BA tiene un riesgo 54% mayor de tener un hijo con bajo peso, además de un riesgo dos veces mayor de tener un hijo prematuro en comparación con las mujeres que no presentan una BA (7,8)

La *E. coli* pertenece a la familia Enterobacteriaceae, que es el grupo más grande y heterogéneo de los bacilos gram negativos. Los miembros de la familia Enterobacteriaceae son microorganismos con forma de bastón, por lo general de 1-3 mc (micras) de largo y 0,5 mc de diámetro(4)

El género *Escherichia* se compone de cinco especies, de las que *E. coli* es la más frecuente y la más relevante desde el punto de vista clínico. Se ha descrito un gran número de antígenos O, H y K, los cuales se utilizan para clasificar a las cepas con fines epidemiológicos. Además de los factores generales que comparten. Todos los miembros de la familia Enterobacteriaceae, las cepas de *Escherichia* responsables de enfermedades como las infecciones urinarias y las gastroenteritis poseen factores de virulencia especializados. *E. coli* es capaz de permanecer en el aparato urinario o en el aparato digestivo como consecuencia de su capacidad de adherencia a las células en estas localizaciones para evitar ser eliminado por el efecto de arrastre de la orina que se expulsa con la micción o por la motilidad intestinal. *E. coli* produce también un espectro variado de exotoxinas, las cuales juegan un papel importante en las infecciones de vías urinarias. (10,6)

La *E. coli* se clasifica en 3 grandes grupos: las cepas comensales, cepas patógenas intestinales y las extra intestinales.(4,5) Existen 4 grupos filogenéticos de importancia como son el grupo (A,B1,B2,D) las cepas comensales pertenecen al grupo filogenético A o B1, las cepas patógenas extra intestinales pertenecen a los grupos filogenéticos B2 o D, y además, poseen

más factores de virulencia que los grupos filogenéticos A y B1 estos últimos son comensales . Como se muestra en la tabla 1 (4)

TABLA 1. DISTRIBUCIÓN FILOGENÉTICA *E. coli* DE ACUERDO A LOS AISLAMIENTOS

Grupo filogenético	Muestra de sangre (n:145)	Muestra de orina(n:200)	Muestra de heces	Total
A	27(18.6%)	19 (9.5%)	78 (38.0%)	124 (22.5%)
B1	11 (7.6%)	18(9.0%)	37 (18.0%)	66 (12.0%)
B2	65 (44.8%)	117(58.5%)	47 (22.9%)	229 (41.6%)
D	42 (29.0%)	46 (23.0%)	43 (21.0%)	131 (23.8%)

Tabla 1. Phylogenetic Groups and Virulence Factors in Pathogenic and Commensal Strains of *Escherichia coli* *annals of microbiology*. (2010)

Las cepas patógenas causantes de infección en vías urinarias o bacteriemia en su mayoría pertenecían a los grupos B2 y D .Existen estudios en Francia y los Estados Unidos de Norteamérica, donde la mayoría cepas comensales son del grupo A o B1 (4). Aproximadamente del 25% al 40% de los pacientes con infecciones de vía del tracto urinario experimenta infección urinaria recurrente (IUR) en semanas o meses, Como el patógeno más predominante, *Escherichia coli* Uropatógena (UPEC) es responsable de casi el 75 a 95% de los episodios de infección no complicada. La persistencia de UPEC dentro de la vejiga podría ser debido al hecho de que las cepas UPEC pueden persistir en la flora fecal durante años y causar infecciones de vías urinarias ascendentes recurrentes. Los factores de virulencia (VF) que presentan las UPEC incluyen adhesinas fimbriales, toxinas, hemolisinas, mecanismos de evasión de la respuesta inmune, (2).Se sabe que el grupo filogenético D es responsable de la mayoría de IUR (infección urinaria recurrente) (39%), seguido de cepas del grupo B2 (27%). (3)

Algunos estudios encuentran que el grado de resistencia también varía según el grupo filogenético de las cepas de *E. coli* Moreno et al 2011. Se ha observado que los grupos considerados más virulentos son más sensibles a las quinolonas que los considerados comensales. Por lo tanto, parece existir una relación inversa entre capacidad de virulencia de la cepa y resistencia a quinolonas. Horcajada y cols 2010. Encuentran que, dentro del grupo filogenético B2, las cepas más virulentas son más sensibles a los antibióticos de la clase de quinolonas

E. coli es el microorganismo más frecuentemente implicado en bacteriemias nosocomiales y comunitarias, junto con el aislamiento de cepas productoras de BLEE (betalactamasa de espectro extendido

La resistencia bacteriana puede definirse como la capacidad de un microorganismo para crecer en presencia de un antimicrobiano a dosis terapéuticas. Dentro de los mecanismos de resistencia bacteriana destaca el de las betalactamasas de espectro extendido (BLEE), cuya aparición en los años ochenta se atribuyó al uso masivo de cefalosporinas de amplio espectro y aztreonam. La mayoría de los mecanismos de resistencia en *E.coli* BLEE es por la presencia de betalactamasas plasmídicas clásicas TEM, SHV,CTX. . (4)

De hecho, la producción de betalactamasas, enzimas capaces de hidrolizar el enlace amida del anillo betalactámico, es el principal mecanismo de resistencia encontrado en gramnegativos. En humanos, el principal reservorio de *E. coli* con BLEE es el tracto digestivo, y su transmisión se facilita por el contacto a través de las manos, habiéndose descrito transmisión plasmídica y bacteriana de estas enzimas entre personas en contacto estrecho. En la tabla 2 se muestran los tipos de betalactamasas encontradas en bacterias gramnegativas.

TABLA 2. BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO.

BLEE	betalactamasa relacionada	País de origen	Especies en las que se detectaron inicialmente
TEM	TEM-1 y TEM-2	Francia (1985)	<i>Enterobacteriaceae</i>
SHV	SHV-1/LEN	Alemania(1983)	<i>Enterobacteriaceae</i>
CTX-M	KLUA/Kluyvera	Varios	<i>E. coli, Salmonella spp.</i>
OXA	OXA-10	Turquia/Francia	<i>P. aeruginosa</i>
PER		Francia (1991)	<i>P. aeruginosa</i>
VEB	PER	Vietnam/Tailandia	<i>E. coli</i>
TLA	CME-1	Mexico (1991)	<i>E. coli</i>
GES-1	<i>Y.enterocolitica</i>	Guayana/Sudafrica	<i>K. pneumoniae P. aeruginosa</i>
BES	Amp A	Brasil (1996)	<i>S. marcescens</i>
SFO	S.fonticola	Japon (1988)	<i>E. cloacae</i>
IBC	Y.enterocolitica	Grecia(1999)	<i>E. cloacae</i>
BEL	GES-1	Belgica(2004)	<i>P. aeruginosa</i>

(Guo Liyan ye, Youjiang Zhang, factores de virulencia de *E. coli* J.Clin. microbiology)

Los factores de riesgo cambian cuando hablamos de infecciones adquiridas en la comunidad: pueden ser el tratamiento antibiótico previo, la hospitalización reciente, cirugía y género masculino (11)

Estos investigadores realizan un análisis multivariado comparativo entre pacientes con aislamientos de BLEE CTX-M y SHV adquiridas en la comunidad, y encontraron que el primer grupo parece asociarse con edad > 60 años y el segundo con Índice de Charlson . (es un sistema de evaluación de la esperanza de vida a los diez años, que depende de la edad en que se evalúa, y de las comorbilidades del sujeto). En el último estudio multicéntrico realizado en España 2014 sobre bacteriemias por *E. coli* con BLEE adquiridas en la comunidad, encuentran como factores de riesgo en el análisis multivariante: la adquisición relacionada con cuidados higienicos extra hospitalarios, la sonda uretral y el tratamiento antibiótico previo, particularmente con fluoroquinolonas, lo que supone un dato preocupante dado el gran papel de estos antibióticos en el tratamiento de diversas infecciones en régimen ambulatorio. (3,2)

La resistencia a los antimicrobianos (o farmacorresistencia) según la OMS se produce cuando los microorganismos, sean bacterias, virus, hongos o parásitos, sufren cambios que hacen que los medicamentos utilizados para curar las infecciones dejen de ser eficaces. OMS- 2009

La resistencia a los antimicrobianos se ve facilitada por el uso inadecuado de los medicamentos, como, por ejemplo, cuando se toman dosis insuficientes o no finalizan el tratamiento los pacientes; como consecuencia existe un mayor riesgo de farmacorresistencia por la selección de flora en algunos agentes microbianos.(2) Los medicamentos de mala calidad, las prescripciones erróneas y las deficiencias de la prevención y el control de las infecciones son otros factores que facilitan la aparición y la propagación de la farmacorresistencia.

En estudios realizados en Barcelona España nos muestra la distribución de *E .coli* de los grupos filogenéticos en función del síndrome clínico, sexo, y edad Como se muestra en la tabla 3.(12)

TABLA 3. DISTRIBUCION DE LOS GRUPOS FILOGENETICOS DE CEPAS DE *E.coli* EN RELACION DEL SINDROME CLINICO, SEXO Y EDAD.

	A n = 24	B1 n = 13	B2 n = 37	D n = 31
Síndrome clínico				
Cistitis ^a	6 (25)	5 (39)	11 (30)	1 (3)
Pielonefritis	4 (17)	3 (23)	10 (27)	10 (32)
Sepsis urinaria	5 (21)	2 (15)	11 (30)	8 (26)
Sepsis no urinaria	9 (37)	3 (23)	5 (13)	12 (39)
Edad (años)				
Media	58	35	49	51
Rango	15-95	0,05-73	0-87	0-97
Sexo				
Mujer	18 (75)	7 (54)	30 (81)	19 (61)
Varón	6 (25)	6 (46)	7 (19)	12 (39)

Eva moreno et al. Enfermedades Infecciosas. Microbiología Clínica. 2008 pag.483

DEFINICIONES OPERACIONALES. (European Association of Urology 2010)

- Reinfeción: Dos cuadros de IVU ocasionados por diferentes microorganismos en un lapso menor de 6 meses
- Infección recurrente: Más de 3 cuadros de IVU en un lapso de 12 meses o 2 episodios en menos de 6 meses
- Persistencia bacteriana: Es la evidencia microbiológica de crecimiento bacteriano a pesar de un tratamiento apropiado
- IVUs complicada: aquellas que padecen pacientes cuyo punto en común es la presencia de bacterias en la orina y algún factor de riesgo para la infección asociado entre los siguientes Anomalías del tracto urinario ya sean estructurales, orgánicas o funcionales, Patologías sistémicas o situaciones que predisponen a sufrir infecciones, Presencia de dispositivos en el aparato urinario (sondas, catéteres)
- IVUs no complicada: Las Infecciones urinarias agudas no complicadas en adultos comprenden episodios de cistitis aguda y pielonefritis aguda en personas por lo demás sanas.

II. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

Escherichia coli es uno de los microorganismos más comunes aislados de infecciones de vías urinarias (IVUs) no complicadas, complicadas y recurrentes en mujeres. Las cepas de *Escherichia coli* Uropatogénicas (UPECs) son un grupo genéticamente heterogéneo que presentan varios factores de virulencia asociados con la colonización y persistencia de las bacterias en el tracto urinario.

Las IVUs son la infecciones más comunes detrás de las infecciones respiratorias y la *E. coli* Uropatógena es el agente etiológico principal causante de éstas y también es el principal miembro facultativo de la flora normal intestinal humana. Alrededor del 10- 50% de las mujeres padecerán una infección urinaria en algún momento de su vida y del 25 al 33% reportarán recurrencia en el mismo año. En los reportes de los últimos años se ha notificado la frecuencia del número IVUs, causadas por *E. coli* resistente a los antibióticos lo cual es de gran preocupación en el área de la salud.

Los microorganismos resistentes a la mayoría de los antimicrobianos se conocen como ultrarresistentes. El fenómeno es muy preocupante porque las infecciones por microorganismos resistentes pueden causar la muerte del paciente, transmitirse a otras personas y generar grandes costos tanto para los pacientes como para la sociedad.

La resistencia a los antimicrobianos constituye una amenaza creciente para la salud pública mundial que requiere la adopción de medidas por parte de todos los sectores gubernamentales y de la sociedad en general. En cuanto a los factores de riesgo asociados a la adquisición de infecciones por cepas productoras de BLEE, son múltiples y difieren según los estudios. Se podría explicar por el uso empírico de antibióticos de amplio espectro que con frecuencia se emplean más en pacientes gravemente enfermos y que favorecería la selección de cepas resistentes. Ortega y colaboradores apuntan como factores predictivos para el aislamiento de *E. coli* con BLEE la adquisición nosocomial, el sondaje urinario y la terapia previa con betalactámicos. Un estudio retrospectivo de casos-controles que compara una cohorte de 50 casos de *E. coli* con BLEE con 100 controles de *E. coli* sin BLEE realizado en Hong Kong entre 1996-1998 muestra como factores de riesgo independientes en el análisis univariante la adquisición nosocomial, la enfermedad de base grave y el foco urinario .

IV. JUSTIFICACIÓN

En general, en la población femenina las infecciones de vías urinarias (IVUs) ocupan el segundo lugar en frecuencia y manifestación superadas sólo por las infecciones respiratorias Hans et al. 2002. Algunos autores indican que hasta el 50% de mujeres tendrán uno o más episodios de infecciones de vías urinarias durante su vida y un 25-33% presentarán IVUs recurrentes. Podemos decir que las infecciones urinarias son uno de los padecimientos más comunes en mujeres y son causa importante de las Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud. *Escherichia coli* es la bacteria más común en las IVUs y presenta una alta tasa de resistencia a los antimicrobianos como: la ampicilina, fosfomicina, gentamicina, amoxicilina, cefotaxima, amoxicilina más ácido clavulánico y trimetoprima más sulfametoxazol (2). La literatura señala que una característica de las UPECs es la elevada tasa de resistencia a los antibióticos.

En el Instituto Nacional de Perinatología se ha destacado la aparición de un nuevo patrón de cepas de *E. coli*, cuyo perfil de fármacorresistencia las clasifica dentro del grupo de las “Multifarmaco-resistentes” y en las que la producción de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) se ha visto involucrada. A la par, entre las bacterias Gram negativas que predominan en los casos diagnosticados por cultivo de sepsis neonatal comienza a hacerse evidente. Con la aparición de las *E. coli* uropatógenas, primeramente en las mujeres embarazadas, se propone la hipótesis de su posible transmisión vertical, generando y/o aumentando la problemática que se vive ya dentro de las unidades de cuidados intensivos del neonato.

De esta forma, se justifica la necesidad de comenzar a caracterizar a “profundidad” a este nuevo grupo fenotípico, estableciendo su grupo filogenético, asociados a su patogenicidad y a la severidad de los síntomas; todo ello con la finalidad de poder hacer el estudio de epidemiología molecular y lograr proponer un método de diagnóstico rápido de este nuevo patrón de *E. coli*. Existen estudios multicéntricos realizados en España, Francia refiere que el 50% de las *E.coli* BLEE son procedentes de la comunidad. Los mecanismos de resistencia de las *E.coli* a los betalactámicos son las betalactamasas estas enzimas que se caracterizan por hidrolizar el enlace del núcleo betalactámico los genes implicados son principalmente blaTEM, blaCTX-M, blaGES entre otros. En las quinolonas las mutaciones puntuales que generan el cambio de aminoácidos de la enzima blanco, sistemas de expulsión y presencia de genes plasmídicos. La aplicación de tratamientos carbapenémicos, incremento de costos de tratamiento, e incremento de la morbi-mortalidad, además que presentan mayor número de genes que codifican factores de virulencia.(13)

V. OBJETIVO GENERAL

El objetivo general es detectar mediante las técnicas moleculares, como la PCR y la relación filogenética, en las cepas de UPEC aisladas en mujeres mayores de 18 años con IVUs no complicadas, complicadas y recurrentes atendidas en el Instituto Nacional de perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes” en México DF.

VI. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Conocer la frecuencia de grupo filogenético *Escherichia coli* Uropatógena en las pacientes atendidas en el Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de Los Reyes”
- Corroborar las cepas de *E.coli* mediante la secuenciación de ácido ribonucleico ribosomal subunidad 16 (rRNA16s)
- Determinar el grupo filogenético de cada una de las cepas seleccionadas para el estudio.
- Determinar la frecuencia de bacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) resistentes algunos antibióticos

VII. TIPO DE ESTUDIO.

Se realizó un estudio de tipo transversal prospectivo descriptivo observacional,

VIII. DEFINICIÓN DEL UNIVERSO DE ESTUDIO.

Cepas de *E. coli* aisladas a partir de pacientes mayores de 18 años que presentaron IVUs, complicadas, No complicadas, o recurrentes en el Instituto nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes"

A) . CRITERIOS DE INCLUSIÓN

las cepas de *E. coli* de mujeres ginecobstetricas con diagnóstico de IVU y que presenten un cultivo positivo de *E. coli*.

B)

C) CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- aquellas muestras que tengan más de dos morfologías distintas en el cultivo.

D) CRITERIOS DE ELIMINACION

- Cepas que después de secuenciar sean identificadas con algún género bacteriano distinto a *Escherichia coli*.

IX. PROCEDIMIENTO:

Se recolectaron las muestras de *E. coli* que se encontraban en el laboratorio de microbiología de manera consecutiva hasta contar con 20 identificadas como BLEE neg y 20 como BLEE positivas. por no contar con antecedentes dentro del instituto de la prevalencia de *E coli* multirresistente se decidió realizar un estudio piloto con 40 pacientes.

Identificación de la frecuencia de aislamiento de *E. coli* BLEE+ Y BLEE- durante enero-julio 2015.

X. METODOLOGIA

Se realizó la descripción de los resultados por medio de tablas y graficas de barras.

Las cepas de *E. coli* aisladas y seleccionadas en el laboratorio de microbiología fueron analizadas de la siguiente manera:

- a) Identificación de fenotipo BLEE+ y BLEE-
- b) Análisis de fenotipo BLEE de acuerdo con grupos de edad
- c) Análisis de fenotipo BLEE de acuerdo con el tratamiento antibacteriano seleccionado
- d) Análisis de fenotipo BLEE de acuerdo con la comorbilidades identificadas
- e) Análisis de fenotipo BLEE de acuerdo con el perfil de resistencia

Una vez realizado este análisis se procedió a la parte molecular de este estudio.

XI. SIEMBRA DE LA MUESTRA Y EXTRACCIÓN DEL DNA TOTAL

Los tubos de cada cepa se calibraron y centrifugaron en la centrifuga Beckman Coulter Allegra a 3000 RPM en 10 minutos. Posteriormente se decantó el sobrenadante en condiciones de esterilidad, se colocó 750mc en el Lysis Tube (ZR bashingbeat) que contiene las perlas para el rompimiento mecánico de las células, se mezcló con la micropipeta. Se le coloco 1 ml a los tubos de Lysis tube (ZR bashingbeat), posteriormente se agito a 3 ciclos de 20 seg. Se centrifugo a 10,000 RPM durante 1 minuto. Posteriormente se transfirió 400mc del sobrenadante a la columna (Zymo-spinfilter)se desprendio la parte inferior de la columna y se colocó en tubos recolectores, cada uno de estos estaba marcado con la clave de la cepa. Se colocó la tapa naranja y se centrifugo a 7000 RPM por 1 min, al diluyente que quedo en el tubo colector, posteriormente se adiciono 1200mc de fungal/bacterial DNA Binding Buffer. Se transfirió 800 mc de la mezcla a una columna de zymo spin del tubo colector y se vuelve a centrifugar a 10,000 RPM en 1 minuto. Se retiró el diluyente del tubo colector y se colocó los otros 800mc a la columna de Zymo-spin, se centrifugo de nuevo a 10,000 RPM por minuto, se retiró el diluyente de nuevo del tubo colector se adiciono 200mc de DNA pre-wash Buffer a la columna Zymo-spin y se centrifugo a 10.000 RPM por 1 minuto en el

mismo tubo colector. Se descartó el diluyente del tubo colector, se adiciono 500mc de fungal/bacterial DNA wash Buffer a la columna de Zymo-spin y se centrifugo a 10.000 RPM por 1 minuto. Luego las columnas de Zymo-spin se colocó en tubos de eppendorf de 2.0mc y se adiciona 80mc de DNA elution Buffer directamente en la matriz de la columna y se centrifugo a 10.000 RPM por 30 seg. Para diluir el DNA, posteriormente se prepara un gel agarosa al 1% en 40ml se cargó los DNA y se corrió por electroforesis el gel de agarosa de 1% y se colocó a 80Volts. En 40 min. Y se observan las bandas de DNA mediante el uso de luz UV en un transiluminador.

XII. REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

Es una técnica básica en biología molecular, fue desarrollada por Kary Mullis en el año de 1983 en California. Éste es un método *in vitro* que hace posible el diagnóstico de enfermedades mediante el análisis y estudio de los genes. También permite la amplificación de un gen de manera exponencial es decir que el propósito de la PCR es hacer muchas copias de un fragmento específico de DNA y distinguirlo del resto del DNA total extraído, para después poder visualizar este fragmento y utilizarlo en otras aplicaciones si es necesario. La PCR es una técnica de biología molecular altamente específica, rápida, sensible y versátil para detectar cantidades ínfimas de un cierto DNA específico, posibilitando su fácil identificación Rodríguez Sánchez Iran Pablo, 2004.

Etapas de la PCR

La PCR está diseñada según el principio natural de replicación del ADN comprendido en tres pasos designados como un ciclo, que se repite un número específico de veces. Un ciclo de PCR consiste en los siguientes pasos

- 1) Desnaturalización.- Es la primera fase y consiste en separar la doble hebra de ADN y convertirla en una hebra sencilla.
- 2) Alineación.- En este siguiente paso Los cebadores o "primers" previamente diseñados, reaccionan con la hebra sencilla de ADN y se pegan en lugares específicos por complementariedad de bases.
- 3) Extensión.- la fase de elongación o extensión, la enzima polimerasa incorpora nucleótidos complementarios a partir del extremo 3' libre de la región en que han hibridado los cebadores. Se utiliza Taq polimerasa la temperatura de elongación suele ser de 72°C, que es la que coincide con la máxima actividad de la polimerasa para evitar alineamientos inespecíficos de los iniciadores

En la tabla 3 se muestran los genes que se amplificaron mediante esta técnica, así como el producto para el que codifican y la secuencia de los iniciadores empleados en una PCR múltiple.

Tabla 3. Genes utilizados para la determinación filogenética

GEN	PRODUCTO	INICIADORES (5'-3')	TAMAÑO DEL AMPLICÓN (pb)
<i>chuA</i>	Proteína transportadora de grupos hemo en EHEC O:157:H7	F: GACGAACCA ACGGTCAGGAT R: TGCCGCCAGTACC AAAGACA	279
<i>yjaA</i>	proteína involucrada en respuesta a estrés oxidativo	F: TGAAGTGTCAGGAGACGCT G R: ATGGAGAATGCGTTCCTCAAC	211
TSPE4.C2	Fragmento anónimo identificado en librería substractiva	F: GAGTAATGTCGGGGCATTCA R: CGCGCCAACAAAGTATTACG	152

Una vez teniendo los iniciadores, se realiza una mezcla de reacción en un tubo de 0.2 UL. Para que se lleve a cabo la amplificación simultánea de los 3 fragmentos. La tabla 4 muestra los componentes de dicha muestra. Una vez realizada la mezcla, los tubos se colocan en un termociclador para que se complete cada una de las etapas mencionadas anteriormente. Las condiciones de amplificación fueron 3 min a 94°C seguidos de 30 ciclos de:

94°C durante 30 seg.

55°C durante 30 seg.

72°C durante 30 seg.

Tabla 4. Mezcla de reacción para la PCR múltiple

Componente	Volumen (ul)
Agua	14.48
Regulador de reacción 10X	2
MgCl ₂ 25mM	1.2
dNTPs 4 mM	0.4
Iniciadores 20uM	0.2 c/u
Taq polimerasa (1U/ul)	0.12

Se muestra el volumen de cada reactivo utilizado por reacción.

Una vez terminada la reacción, los productos se visualizaron mediante su electroforesis en gel de agarosa al 1.5%. Se identificaron los tamaños moleculares de los productos y se determinó su grupo filogenético de acuerdo con Clermont y colaboradores (2000) como se muestra en la figura 1.

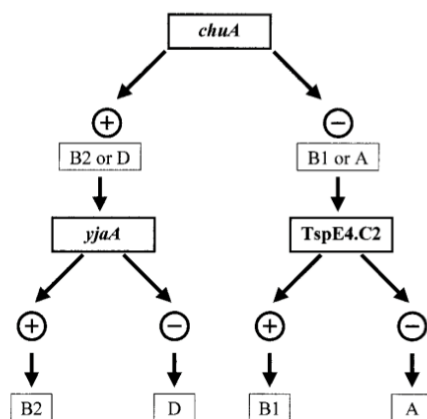


Figura 1. Determinación del grupo filogenético de acuerdo con los genes identificados mediante la PCR múltiple

XIII. RESULTADOS - FIGURAS

Al realizar el análisis de acuerdo con la edad se observó que el grupo más susceptible de presentar IVU ocasionada por *E. coli* fue el de mujeres de 40 años en adelante. El menor número de aislamiento se obtuvo en mujeres menores a 20 años (fig. 2).

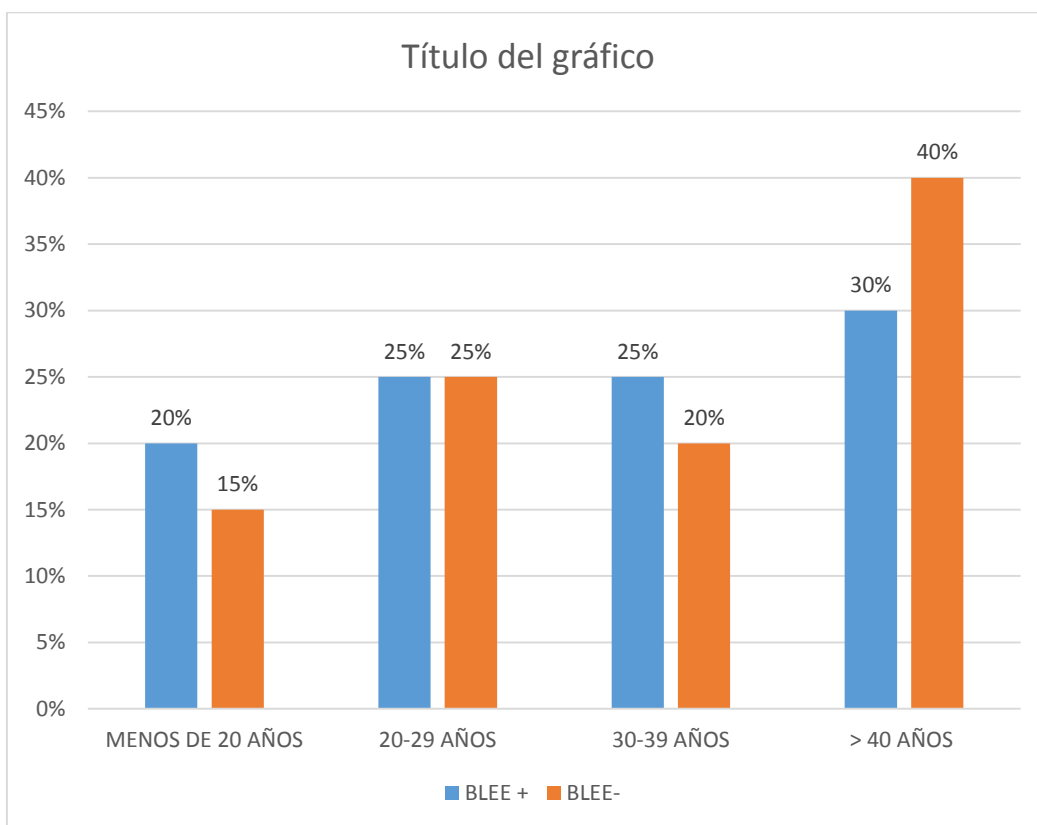


Figura 2. Porcentaje de aislamiento de cepas de *E. coli* BLEE y NO BLEE de acuerdo con la edad de la paciente. Se observa de acuerdo a la gráfica la mayoría en mujeres > de 40 años en ambos grupos tanto de BLEE+ y BLEE-.

De todas las pacientes con IVU ocasionada por *E. coli* BLEE+ incluidas en este análisis, se encontró que el tratamiento de mayor elección fue Nitrofurantoina; sin embargo, un grupo similar de paciente no recibió tratamiento empírico (fig. 3). En el caso de las *E. coli* BLEE- se observó una mayor proporción de mujeres sin tratamiento seguida de un tratamiento con amino glucósidos (fig. 4).

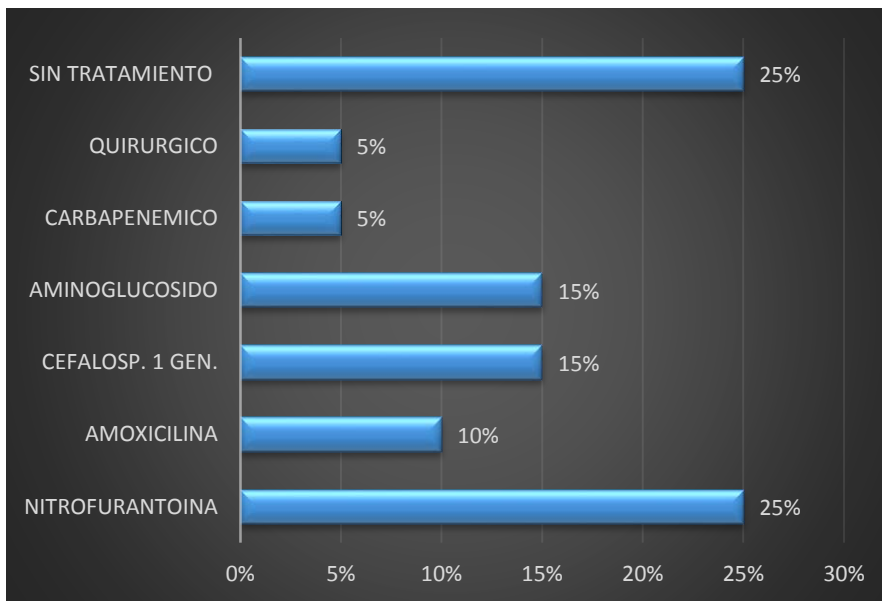


Figura 3. Representa las cepas *E. coli* BLEE + con los diferentes tipos de tratamiento previos aislamiento

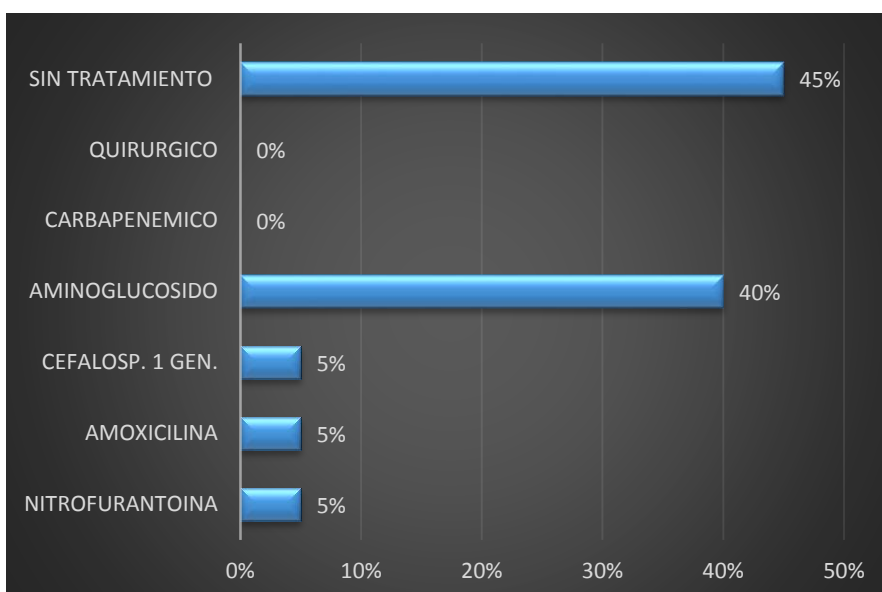


Figura 4. Representa las cepas *E. coli* BLEE - con los diferentes tipos de tratamiento previos al aislamiento

Posteriormente, se analizaron la comorbilidades de las pacientes y se encontró que en el caso de aquellas que tenían *E. coli* BLEE+, esta infección se reportó como IVU de repetición (fig. 5); mientras que en las pacientes con *E. coli* BLEE- se encontraron enfermedades agudas con mayor frecuencia (preeclamsia, eclampsia, entre otras; fig. 6)

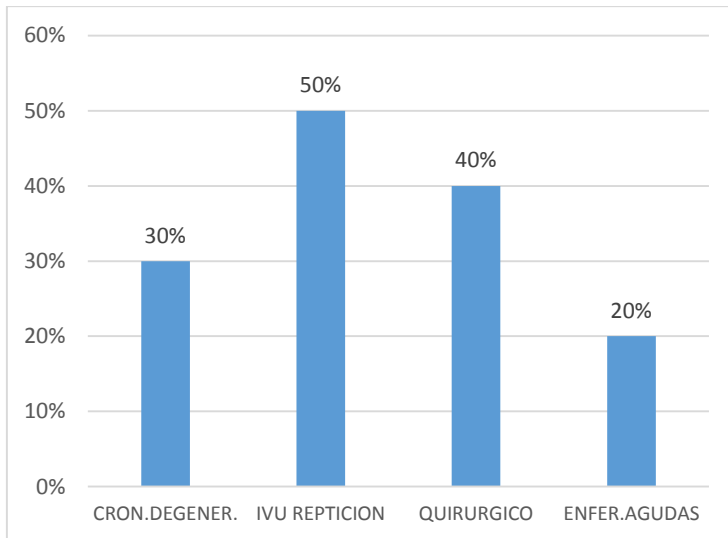


Figura 5. Comorbilidades encontradas en pacientes con *E. coli* BLEE +

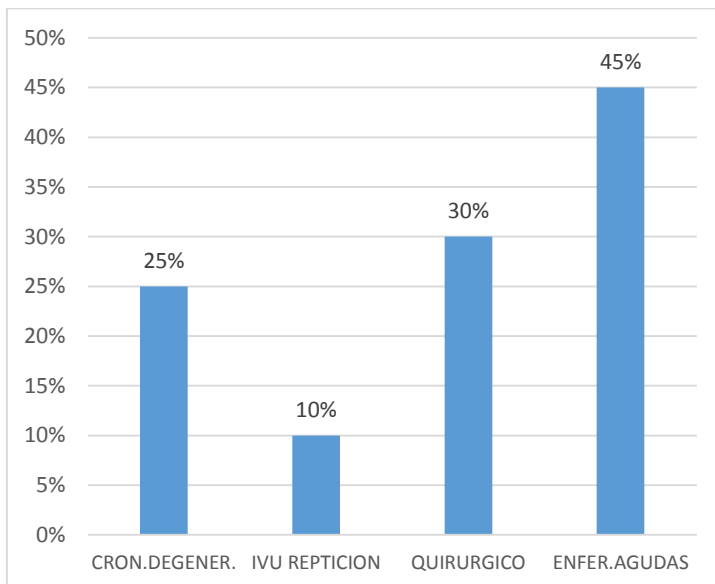


Figura 6. Comorbilidades encontradas en pacientes con *E. coli* BLEE -

Finalmente, en cuanto al análisis fenotípico y de asociación, se analizaron las fármacorresistencias que presentaron las diferentes cepas BLEE+ y BLEE- de *E. coli*, y se encontró que de manera general, aquellas cepas con perfil BLEE+ presentan un mayor número de resistencias a diferentes antibióticos respecto a aquellas que son BLEE-. Se observó una alta frecuencia de resistencia a ampicilina tanto en BLEE+ como en BLEE-, así como un 100% de susceptibilidad a carbapenem y meropenem por los dos fenotipos (fig. 7).

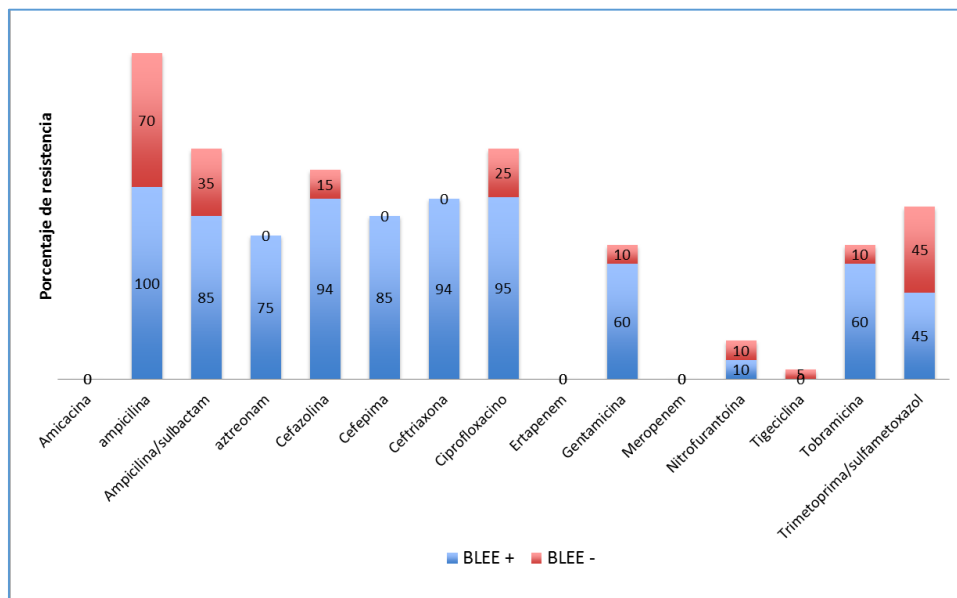


Figura 7. Porcentaje de resistencia a diferentes antibióticos.

Este mismo análisis se repitió analizando el número de cepas resistentes a diferentes clases de antibióticos, recordando que para definir una multifármaco resistencia se debe de tener resistencia a 4 clases de antibióticos. De acuerdo con este análisis, se observó que se tiene un importante problema de MFR en las *E. coli* BLEE+ (fig. 8).

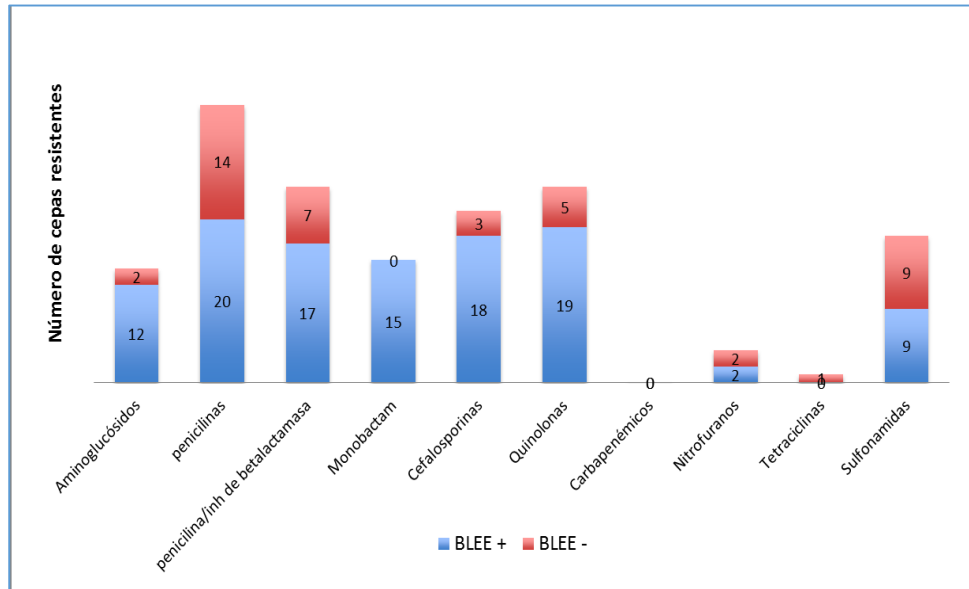


Figura 8. Número de cepas de *E. coli* resistentes a diferentes clases de antibióticos.

Al analizar el número de cepas que compartían resistencia a las diferentes clases de antibióticos, se logró definir que de 20 cepas, 18 BLEE+ fueron además MFR, mientras que solo 3 BLEE- presentaron el fenómeno. De manera interesante se observó que la mayoría de las cepas BLEE- (8/20) presentaron resistencia a únicamente 2 clases de antibióticos y 4/20 cepas del mismo fenotipo fueron 100% sensibles a los antimicrobianos probados (fig. 9).

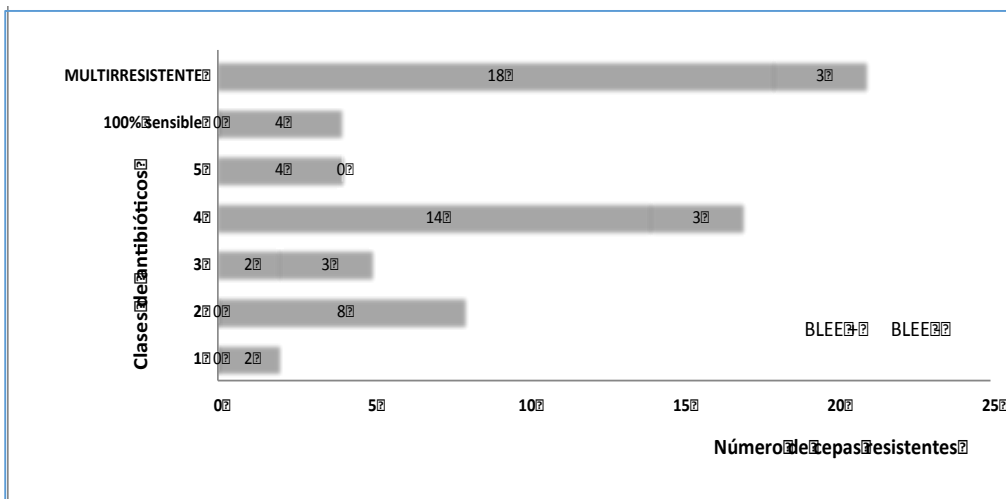


Figura 9. Número de cepas de *E. coli* con multifármaco resistencia (MFR).

XIV. ANÁLISIS MOLECULAR

1- Extracción de DNA

Con las mismas cepas se realizó el análisis molecular. Para cada uno de los análisis moleculares, se partió de la extracción del DNA genómico. En la figura 10 se muestran diferentes DNAs de *E. coli* tanto BLEE+ como BLEE-. En los casos en los que se observa DNA (excepción de carril 12), este contó con la calidad adecuada para llevar a cabo los experimentos subsecuentes, teniendo un alto tamaño molecular. La concentración de los DNAs varió de 0.5ng a 1.5ug y su pureza fue de A260/A280 de 1.8 a 2.0.

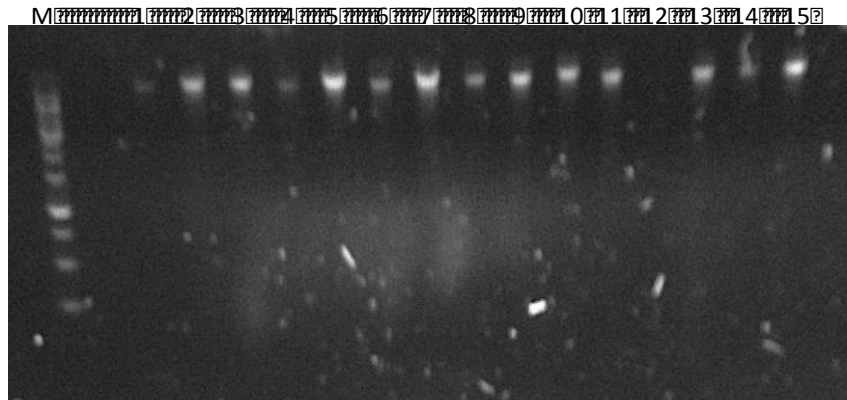


Figura 10. Electroforesis en gel de Agarosa al 1% de los DNAs de *E. coli*. M, marcador de tamaño molecular de 1Kb, la banda de mayor tamaño corresponde con 10000 pb; carriles 1-8, DNA de *E. coli* BLEE+; carriles 9-15, DNA de *E. coli* BLEE-.

2- Confirmación molecular de la identificación.

Se amplificó un fragmento de la región codificante de la fracción 16S de rRNA y se observó mediante su desarrollo electroforético. En la figura 11 se observa el producto amplificado, el cual es único y del tamaño molecular esperado.

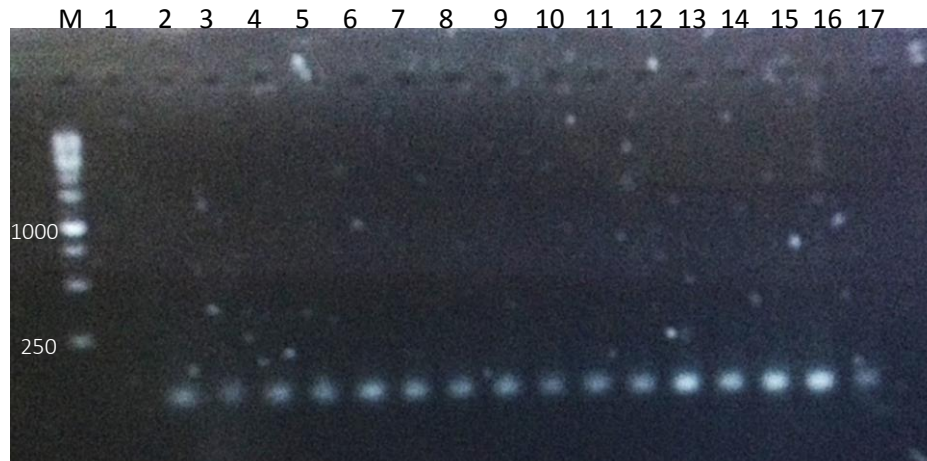


Figura 11. Electroforesis en gel de Agarosa al 1.5% de los productos amplificados de rDNA 16S de *E. coli*. M, marcador de tamaño molecular de 1Kb; carriles 1-8, DNAs representativos de *E. coli* BLEE+; carriles 9-15, DNAs representativos de *E. coli* BLEE-. El tamaño molecular esperado es de 100 pb.

Los productos de PCR se secuenciaron para así confirmar su identidad, mediante su comparación con los genomas reportados en la base de datos del gene bank (www.ncbi.nlm.nih.gov). Todos los DNA utilizados correspondieron con *Escherichia coli*, por lo que se guardaron para su posterior clasificación filogenética.

3- Clasificación filogenética.

Se realizó la PCR múltiple para la determinación de los grupos filogenéticos. En la figura 12 se observa una imagen representativa de los productos de la PCR múltiple, en donde de acuerdo con el número y tamaño de los fragmentos se puede discriminar entre los grupos filogenéticos A, B1, B2 y D, de los cuales los grupos B2 y D representan a las cepas extra intestinales de mayor virulencia. Se analizaron las imágenes de las PCRs de todas las cepas en estudio y se determinó su grupo filogenético; los resultados se muestran en las tablas 5 y 6. Estos datos se graficaron para comparar la situación filogenética entre las cepas BLEE- y las BLEE+ (fig. 13a y 13b). De manera interesante, se encontró que independientemente del nivel de resistencia a antimicrobianos, las cepas BLEE+ como las BLEE- tuvieron la misma cantidad de grupos virulentos, es decir, 16 de 20 cepas pertenecieron a un grupo filogenético virulento. Cabe destacar, que para el caso de las *E. coli* BLEE+, de las 16 cepas virulentas 6 correspondieron con el filo grupo D, mientras que en el caso de las *E. coli* BLEE- las 16 cepas pertenecieron al B2 (fig. 13a y 13b).

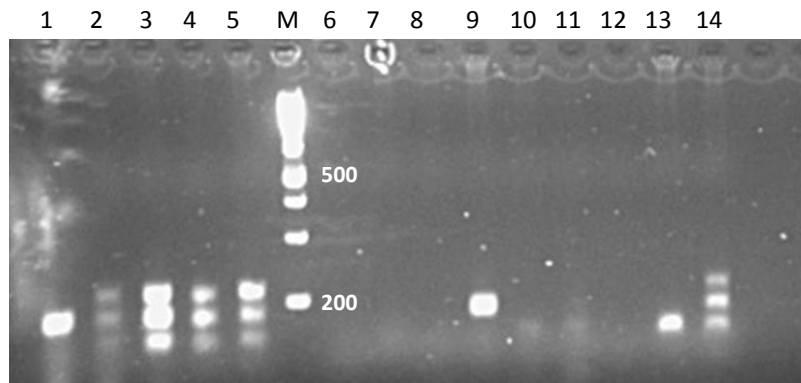


Figura 12. Electroforesis en gel de Agarosa al 1.5% de los productos de la PCR múltiple de *E. coli*. Se determinó el grupo filogenético de cada cepa de acuerdo con el número y tamaño molecular de las bandas. M, marcador de tamaño molecular de 1Kb; carriles 1-14, DNAs representativos de *E. coli* BLEE+ y BLEE-.

Tabla 5. Grupos filogenéticos encontrados en las cepas de *E. coli* BLEE-

	CEPA	BANDAS	GPO FILOGENÉTICO
1.	1243	152/211/279	B2
2.	1303	152/211/279	B2
3.	1343	279/211	B2
4.	1283	279/211/152	B2
5.	1295	152	B1
6.	1596	279/211/152	B2
7.	1049	279/211	B2
8.	1001	279/211	B2
9.	1414	279/211/152	B2
10.	1583	211	A
11.	1393	279/211/152	B2
12.	1352	274/211	B2
13.	1008	279/211	B2
14.	1624	279/211/152	B2
15.	1464	279/211	B2
16.	1550	211	A
17.	1248	279/211/152	B2
18.	1422	279/211	B2
19.	1604	152	B1
20.	1125	279/211/152	B2

Se muestra el tamaño molecular de cada una de las bandas y de acuerdo con ello el grupo filogenético al cual corresponde. 16 de las cepas corresponden al grupo B2.

Tabla 6. Grupos filogenéticos encontrados en las cepas de *E. coli* BLEE+

	CEPA	BANDAS	GRUPO FILOGENÉTICO
1.	15051294	279	D
2.	15051434	279/211/152	B2
3.	15051416	279/211/152	B2
4.	15051258	211	A
5.	15051284	211	A
6.	15051131	279/211/152	B2
7.	15051005	279/211/152	B2
8.	15051109	279	D
9.	15051119	152	B1
10.	15051063	152	B1
11.	15041602	279/152	D
12.	15051501	279/211/152	B2
13.	15061025	279/211/152	B2
14.	15061162	279/211/152	B2
15.	15061138	279/211/152	B2
16.	15061230	279/211/152	B2
17.	15061328	279	D
18.	15061370	279/211/152	B2
19.	15071104	279/152	D
20.	15071159	279	D

Muestra el tamaño molecular de cada una de las bandas y de acuerdo con ello el grupo filogenético al cual corresponde. 16 de las cepas corresponden a un grupo virulento; 10 al B2 y 6 al D.

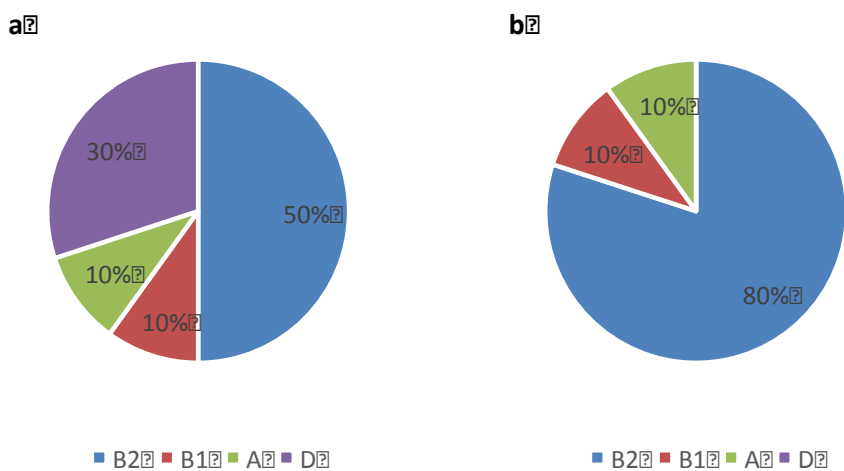


Figura 13. Proporción de grupos filogenéticos presentes en las cepas de *E. coli* BLEE+ y BLEE-. a) Cepas de *E. coli* BLEE+, b) Cepas de *E. coli* BLEE-. Se observan cepas del grupo D únicamente en el fenotipo BLEE+. Para los dos fenotipos, el 90% de las cepas correspondió con un filo grupo virulento.

XV. RESULTADOS

Los resultados de este estudio se obtuvieron a partir de cepas del año 2015 (enero- octubre) del patógeno *E. coli* uropatógena (UPEC) en pacientes femeninas mayores de 18 años, en el Instituto Nacional de perinatología Isidro Espinosa de los Reyes (INperIER). El universo consistió en 40 cepas de *E. coli* aisladas de diferentes pacientes, las cuales se dividieron en 2 grupos fenotípicos: BLEE + y BLEE -. Se analizaron datos del archivo clínico. Con el objetivo de observar la incidencia de acuerdo a sus grupos filogenéticos de virulencia se emplearon las técnicas moleculares de extracción de DNA y PCR múltiple.

Los resultados que se arrojaron fueron los siguientes: el predominio de aislamientos en el grupo de edad de mayores de 40 años (UPEC -BLEE 30% y no BLEE 40%) como se observó en la figura 2. En lo referente al tratamiento antibiótico previo se observa de las BLEE + sin tratamiento (25%), quirúrgicos (5%), carbapenémicos (5%), aminoglucosido(15%), cefalosporina de 1 gen. (15%), amoxicilina (10%), nitrofurantoina 25% , en las BLEE - sin tratamiento (45%), aminoglucosido (40%), cefalosp. De 1 gen. (5%), amoxicilina (5%), nitrofurantoina(5%) el principal tratamiento con antibiótico que se le aplicó a las pacientes con *E.coli* BLEE + fue nitrofurantoina como se observa en la figura 4; mientras que la BLEE - el principal antibiótico que se les aplicó fue el aminoglucósido como muestra en la figura 3. Ambos tratamientos fueron administrados en forma empírica, ya que aún no se contaba con resultados.

Los resultados de las comorbilidades fueron las siguientes en las BLEE + crónico degenerativas (30%) (DM e HAS), IVU repetición (50%), quirúrgico (40%) (HTA, cirugías vesicales), enfermedades aguda (20%)(preeclamsia, eclampsia) como se observa en figura 5. Las BLEE - crónica degenerativas (25%), IVU repetición (10%), quirúrgico (30%), enfermedades Agudas (45%).como se observa en figura 6. Las BLEE + el incremento importante en las IVU repetición, ya que en su gran mayoría fueron No tratadas. Lo que explica su aumento ya que no es el tratamiento adecuado de un agente BLEE +.

Grupo filogenético

El grupo filogenético que es el objetivo de este estudio arrojó los siguientes resultados en el grupo de los BLEE + B2 (50%), B1 (10%), A (10%), D (30%) se observa en la figura 13a y los BLEE - muestra B2 (80%), B1 (10%), A(10%) y D (0%) se observa en la figura 13b. En ambos grupos se observa un incremento de B2 que de acuerdo a epidemiología es lo esperado.

Resistencia a los antibióticos: se observa una alta resistencia mayor del 80% en las BLEE+ (ampicilina/sulbactam, cefazolina, cefepima, ceftriaxona, ciprofloxacino) y las BLEE- no muestran resistencia a ninguno de estos antibióticos (figura 7). Se observa en la gráfica que la resistencia es nula en los aminoglucósidos y carbapenémicos y la nitrofurantoina solo representa el (10%) de resistencia en ambos grupos y TMP/SMT el (45%) de resistencia en ambos grupos (figuras 7 y 8).

XVI. DISCUSION.

En nuestro país existen múltiples pérdidas económicas por comorbilidades relacionadas a *E. coli* e incluso una alta mortalidad como principal agente de choque séptico.

La resistencia de *E. coli* a los medicamentos antimicrobianos está fuertemente relacionada al grupo filogenético. Los aislados de *E. coli* extra intestinal que son virulentos, normalmente pertenecen a grupos filogenéticos B2 y D, mientras que los aislados comensales pertenecen al grupo A y B1. En México hasta donde sabemos no existen estudios epidemiológicos referentes al grupo filogenético de *E. coli* uropatógeno en mujeres.

Las cepas patógenas de *E. coli* que se aislaron son uropatógenas, en un grupo de mujeres que en su mayoría eran gestantes en su mayoría resultaron ser B2, en el 50% en BLEE + y 80% en BLEE-. Existen estudios en Rusia donde se compara los diferentes grupos filogenéticos en su mayoría el 55% de los aislados perteneció al grupo A como principal agente uropatógeno. El cambio epidemiológico de los grupos No B, se consideró como resultado de una alta resistencia a antibióticos por parte de los aislados del grupo A, por lo que fue la que más persistió en el estudio realizado en Rusia.

En comparación con otros estudios que se han realizado, principalmente un estudio multicéntrico realizado en china en el año 2012, y corea 2010, ambos estudios su metodología fue similar a la nuestra con la obtención de cepas por PCR y electroforesis. Muestran datos epidemiológicos similares al nuestro donde el predominio de la cepa encontrada en su mayoría fue del grupo filogenético B2. En un 44-58%. Además que en estos estudios se tomaron en cuenta los factores de virulencia, que son considerados factores genéticos que contribuyen a la virulencia bacteriana de la cepa, nuestro estudio carece de la realización de estos factores de virulencia. Otro dato importante en el estudio epidemiológico del grupo filogenético es que no muestra el grupo D en aislamiento en las cepas *E. coli* BLEE -. A diferencia de algunos de los estudios multicéntricos comentados anteriormente (China y Corea) muestran como segundo agente causal al grupo filogenético D.

Nuestro estudio a diferencia de otros estudios comentados (Rusia, China, Corea), es que se dividió en grupos de BLEE + y BLEE -, a diferencia de estos estudios que no refieren tal diferenciación, además que nuestro estudio abarcó cuadro clínico y tratamiento previo así como algunas comorbilidades, mostrando mayor número de variables que son de suma importancia en nuestro hospital (INperIER).

En lo referente a la resistencia nuestro estudio muestra resistencia de un 60% en aminoglucósido en BLEE + y nula resistencia a carbapenémicos, en los últimos 8 años se ha visto alrededor del mundo un incremento importante de cepas BLEE + como cepas de mayor incidencia de infecciones de tracto urinario, con diferentes grados de resistencia, a diferentes antibióticos pero aun los estudios no muestran resistencia a carbapenémicos.

La resistencia a los antibióticos mucho depende de los factores de virulencia que portan las cepas, que en este momento no se realizó para este estudio. Una de las principales razones por las que la incidencia es mayor de grupo filogenético B2 es la persistencia en el tracto gastrointestinal con múltiples factores de virulencia que no es el objetivo de nuestro estudio y los cambios mutagénicos que sufre la cepa de acuerdo al uso indiscriminado de tratamiento con antibióticos. Como principales factores de incidencia. El resultado mostró tratamiento con nitrofuranos para *E. coli* BLEE + y para *E. coli* BLEE – aminoglicosidos, estos representan presiones de selección que pudiesen incrementar el riesgo de mutación de la cepa *E. coli* grupo filogenético B2. No hemos encontrado otros estudios que hagan una relación de las comorbilidades con las diferentes cepas de acuerdo a su grupo filogenético. Ya que todos los estudios encontrados solo muestran la infección de vías urinarias sin alguna otra comorbilidad.

XVII. CONCLUSIONES

1. Nuestro estudio muestra resistencia de un 60% en aminoglucósido en BLEE + y nula resistencia a carbapenémicos,
2. El resultado mostró tratamiento con nitrofuranos para *E. coli* BLEE + y para *E. coli* BLEE – aminoglicosidos, estos representan presiones de selección que pudiesen incrementar el riesgo de mutación de la cepa *E. coli* grupo filogenético B2.
3. Los del grupo BLEE – a pesar de pertenecer a un grupo filogenético virulento aún no han adquirido multifarmaco-resistencia.
4. El grupo filogenético puede contribuir al tratamiento para erradicar el agente.
5. Se observaron cepas del grupo D únicamente en el fenotipo BLEE+.
6. La mayoría de las comorbilidades encontradas en el grupo *E. coli* BLEE – fueron enfermedades agudas
7. La mayoría de las comorbilidades encontradas en el grupo *E. coli* BLEE + fueron infecciones de vías urinarias de repetición.

XVIII. BIBLIOGRAFIA

1. Guo, Liyan Ye, Youjiang Zhang and Jiyong Yang Yanping Luo, Yanning Ma, Qiang Zhao, Leili Wang, Ling Reinfection, Infections That Persist or Result from Isolates Causing Recurrent Urinary Tract, Virulence Factor Profiles of Escherichia coli Antimicrobial Susceptibilities, and, Similarity and Divergence of Phylogenies, 2012, 50(12):4002. DOI:J. Clin. Microbiology.
2. Enriquez Recalde E, Sonia Ontaneda L, Genotipificación de factores de virulencia de Escherichia coli Uropatógena (UPEC) por medio de la técnica Multiplex PCR, en infecciones de vías urinarias, no complicadas, complicadas y recurrentes en mujeres mayores de 18 años, del Hospital Carlos Andrade Marín durante los años 2010 y 2011” Pontifica universidad Catolica de Ecuador. Vol. 20 no.15
3. Seungok Lee, Jin Kyung Yu, Kanggyun Park, Phylogenetic Groups and Virulence Factors in Pathogenic and Commensal Strains of Escherichia coli and Their Association with blaCTX-M, Annals of Clinical & Laboratory Science, vol. 40, no. 4, 2010 361
4. Muhammad Azeem Saeed, Abdul Haque, Aamir Ali, Relationship of drug resistance to phylogenetic groups of E. coli isolates from wound infections J Infect Dev Ctries 2009; 3(9):667-670.
5. Saira Bashir, Yasra Sarwar, Aamir Ali, Mashkooor Mohsin, multiple drug resistance patterns in various phylogenetic groups of uropathogenic, Brazilian Journal of Microbiology (2011) 42: 1278-1283
6. Millán Y, Hernández E, Millán B, Distribución de grupos filogenéticos y factores de virulencia en cepas de Escherichia coli uropatógena productora de β -lactamasa CTX-M-15 aisladas de pacientes de la comunidad en Mérida, Venezuela, Rev. Argentina. Microbiología Vol. 46 no.3
7. Estrada-Altamirano A, R.Figueroa-Damián R, Villagrana-Zesati, Infección de vías urinarias en la mujer embarazada. Importancia del escrutinio de bacteriuria asintomática durante la gestación, Julio-Septiembre, 2010 Volumen 24, Número 3 pp 182-18
8. Pilar Velázquez , L Romero Nava, R. Villagrana Zesatti, infección recurrente en las vías urinarias de la mujer, Ginecol Obstet Mex 2010;78(5):S437-S459
9. Olivier Clermont, Stephane Bonacorsi, et al. Rapid and Simple Determination of the Escherichia coli Phylogenetic Group microbiology Oct. 2000, p. 4555–4558 Vol. 66, No. 10
10. J. Molina, E.Manjarrez cols. Bacteriologia-Virologia medica edicion 2011. Escherichia coli. Cap. 16 pag. 213-214
11. J. Rodríguez-Baño, J. Alcalá community infections caused by extended-spectrum B-lactamase producing *E.coli* Archives of internal medicine Vol. 168 pag. 1897-1902
12. Eva Moreno, Guillem Prats, Irene Planells, Caracterización de Escherichia coli de los grupos filogenéticos A y B1 causantes de infección extraintestinal *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, Volume 24, Issue 8, Pages 483-489
13. F.Navarro Risueño, Rafael Canton, F.fernandez detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gram negativos. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica Vol. 29 pags.524-534