



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**LABORATORIO DE PATOGENICIDAD BACTERIANA,
DEPARTAMENTO DE SALUD PÚBLICA, FACULTAD DE MEDICINA UNAM.
Y HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO, "FEDERICO GÓMEZ".**

**ASOCIACIÓN DE LOS SEROGRUPOS UROPATÓGENOS,
CON LA RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS EN CEPAS
DE *Escherichia coli* AISLADAS DE PACIENTES CON
INFECCIÓN DEL TRACTO URINARIO**

**TESINA QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE LA
ESPECIALIZACIÓN EN BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRESENTA:**

QFB. INGRID IRASEMA IDALID DE LEÓN ABUNDIZ



CD.MX. AÑO 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: DR. RODOLFO PASTELÍN PALACIOS

VOCAL: DR. LUIS MANUEL PEREA MEJÍA

SECRETARIO: M. EN F. MARÍA DEL CONSUELO VELÁZQUEZ ACOSTA

1er. SUPLENTE: DRA. MÓNICA VIVEROS ROGEL

2º SUPLENTE: DRA. MIRIAM BOBADILLA DEL VALLE

TRABAJO REALIZADO EN:

Laboratorio de Patogenicidad Bacteriana,
Departamento de Salud Pública, Facultad de Medicina UNAM.
Hospital Infantil de México, “Federico Gómez”.

ASESOR DEL TEMA:

Dr. José Molina López

SUSTENTANTE:

QFB. Ingrid Irasema Idalid De León Abundiz

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	3
I. INTRODUCCIÓN.....	4
1. Infecciones del Tracto Urinario	4
1.1 Patogénesis.....	5
1.2 Manifestaciones clínicas.....	7
1.3 Identificación en el Laboratorio.....	8
1.3.1 Reducción de Nitratos.....	8
1.3.2 Esterasa leucocitaria	9
1.3.3 Cultivo.....	10
1.4 Tratamiento.....	10
1.5 Etiología.....	11
1.6 Generalidades de <i>Escherichia coli</i>	12
1.7 Factores de riesgo.....	12
1.8 Epidemiología	14
2. Infecciones Causadas por <i>Escherichia coli</i>	16
2.1 <i>Escherichia coli</i> uropatógena.....	17
2.2 Factores de virulencia	17
2.3 Serotipificación.....	18
2.4 Antimicrobianos.....	20
2.5 Resistencia a antimicrobianos.....	22
II. JUSTIFICACIÓN.....	24
III. HIPÓTESIS.....	24
IV. OBJETIVOS.....	25
V. MÉTODO.....	26
1. Diseño del estudio	26
2. Población	26
3. Tamaño de la muestra	26
4. Criterios de inclusión	27
5. Criterios de exclusión	27
VI. Metodología.....	27
1. Determinación de la resistencia a antimicrobianos.....	27
1.1 Difusión en disco	27
2. Extracción de DNA genómico.....	29
3. Identificación del serogrupo.....	29
3.1 PCR múltiple.....	29
4. Algoritmo general de trabajo	32
VII. RESULTADOS.....	33
1. Resistencia a antimicrobianos	33
2. Identificación del serogrupo mediante PCR.	36
3. Asociación entre resistencia y serogrupo	37
VIII. DISCUSIÓN.....	40
IX. CONCLUSIONES.....	44
X. REFERENCIAS.....	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura [1]	Patogénesis de Infecciones del Tracto Urinario.	6
Figura [2]	Agentes causales en ISTU (porcentaje de frecuencias).	12
Figura [3]	Incidencia anual de pielonefritis en pacientes ambulatorios, en Corea del Sur.	13
Figura [4]	Incidencia de las principales causas de enfermedad en México.	15
Figura [5]	Estructura general del Lipopolisacarido en bacterias Gramnegativas	19
Figura [6]	Mecanismos de acción de antimicrobianos.	21
Figura [7]	Verificación de la integridad del DNA genómico	29
Figura [8]	Resistencia a antimicrobianos	34
Figura [9]	Electroforesis de los amplificados de PCR en gel de agarosa para el grupo 1	37

INDICE DE CUADROS

Cuadro [1]	Causas asociadas a los síntomas presentados al realizar el diagnóstico de Infección del Tracto Urinario.	7
Cuadro [2]	Tratamiento recomendado para menores de 18 años con ITU.	11
Cuadro [3]	Tratamiento recomendado para mujeres embarazadas y no embarazadas con ITU.	11
Cuadro [4]	Factores de virulencia de cepas UPEC.	18
Cuadro [5]	Características de las diferentes familias de antimicrobianos.	22
Cuadro [6]	Antimicrobianos utilizados y especificaciones para la interpretación de la prueba de difusión en disco.	28
Cuadro [7]	Secuencias de iniciadores de PCR Múltiple para la identificación del serogrupo para Grupo 1.	31
Cuadro [8]	Secuencias de iniciadores de PCR Múltiple para la identificación del serogrupo para Grupo 2	31
Cuadro [9]	Susceptibilidad antimicrobiana de los 64 aislados clínicos analizados.	33
Cuadro [10]	Patrones de resistencia por grupos de antibióticos	35
Cuadro [11]	Identificación del serogrupo uropatógeno de los aislados clínicos de <i>E. coli</i> .	36
Cuadro [12]	Asociación entre patrón de resistencia y serogrupo.	38
Cuadro [13]	Serogrupo y patrones de resistencia.	39

RESUMEN

Las Infecciones del Tracto Urinario (ITU) son de las infecciones bacterianas más comunes y el 90% son ocasionadas por cepas de *Escherichia coli* Uropatógena (UPEC). Estas infecciones representan un problema de salud pública en México, por lo cual es necesario realizar estudios para conocer las cepas que predominan y que con frecuencia presentan multirresistencia a los fármacos antimicrobianos. El objetivo del presente trabajo fue estudiar las propiedades de un grupo de cepas aisladas de pacientes con ITU, con el fin de identificar algún tipo de asociación entre el serogrupo al que pertenece cada cepa, con la resistencia a antimicrobianos.

Se analizaron 64 cepas de *Escherichia coli* (*E. coli*) y se identificó el serogrupo mediante una PCR múltiple, para los 14 antígenos tipo O correspondientes a los serogrupos predominantes en cepas uropatógenas. El método de difusión en disco Kirby-Bauer se utilizó para evaluar la resistencia a antimicrobianos, se probaron 21 de los más utilizados en el tratamiento para ITU.

Los resultados para la identificación del serogrupo indican que 26 cepas (41%) amplificaron para alguno de los 14 serogrupos, de los cuales el predominante corresponde al serogrupo O25 con 14 cepas (53.8%), seguido de O75 con 5 cepas (19.2%). Los resultados de resistencia a antimicrobianos nos muestran que un 92% de las cepas fueron multirresistentes, esto quiere decir que fueron resistentes al menos a un antimicrobiano de tres clases diferentes.

Al asociar los serogrupos con el patrón de resistencia a antimicrobianos podemos observar que el serogrupo O25, que es el de mayor frecuencia, tiene un patrón característico de multi-resistencia que se repite en la mayoría de las cepas identificadas con este serogrupo.

I. INTRODUCCIÓN

1. Infecciones del Tracto Urinario

Las infecciones del tracto Urinario (IsTU) se definen como la presencia y multiplicación de microorganismos en la vía urinaria, con diseminación a los tejidos y que generalmente cursan con un gran número de bacterias en orina (bacteriuria). [1] Las IsTU pueden cursar asintomáticas o con una amplia variedad de síntomas en el tracto urinario, las cuales van desde una bacteriuria asintomática hasta una condición más grave como es la pielonefritis. [2]

Por lo general las IsTU se clasifican dependiendo del área afectada en:

- Infecciones del tracto urinario inferior o infección menor como: cistitis, uretritis y en el caso de los hombres se puede presentar prostatitis y epididimitis. Se considera recurrente cuando se presentan tres o más episodios en un periodo de 12 meses.
- Infecciones del tracto urinario superior: Pielonefritis aguda.

Las infecciones asintomáticas o bacteriuria asintomática se determinan cuando se tiene un reporte de cultivo con más de 100 000 UFC/mL de orina. [3, 4, 5] Para evitar falsos negativos se recomienda un nivel mínimo de 50,000 UFC/mL para el reporte de cultivo positivo. [6]

Clínicamente las IsTU se clasifican en no complicadas y complicadas, las no complicadas afectan a individuos sanos sin anomalías estructurales o neurológicas en el tracto urinario, principalmente se presentan en el tracto urinario inferior. Las IsTU complicadas se asocian

con factores que comprometen al tracto urinario o las defensas del paciente, incluidas las obstrucciones urinarias, retención urinaria causada por enfermedad neurológica, inmunosupresión, falla renal, trasplante renal, embarazo, presencia de cuerpos extraños como cálculos y catéteres urinarios. [2]

1.1 Patogénesis

En condiciones normales, la orina y las vías urinarias son estériles, mientras que la uretra distal está colonizada por parte de la microbiota cutánea y vaginal por bacterias como: corynebacterias, estreptococos, estafilococos, lactobacilos y en ocasiones de manera transitoria, se llegan a encontrar bacilos gramnegativos. [1]

De manera general las ISTU se presentan por la ruta ascendente, después de la contaminación del área peri-uretral, vía reservorio fecal o vaginal (en el caso de las mujeres). La bacteria asciende por la uretra y coloniza la vejiga, y se genera cistitis, si la infección continúa por los uréteres alcanza el riñón y se produce pielonefritis (Figura 1). [8]

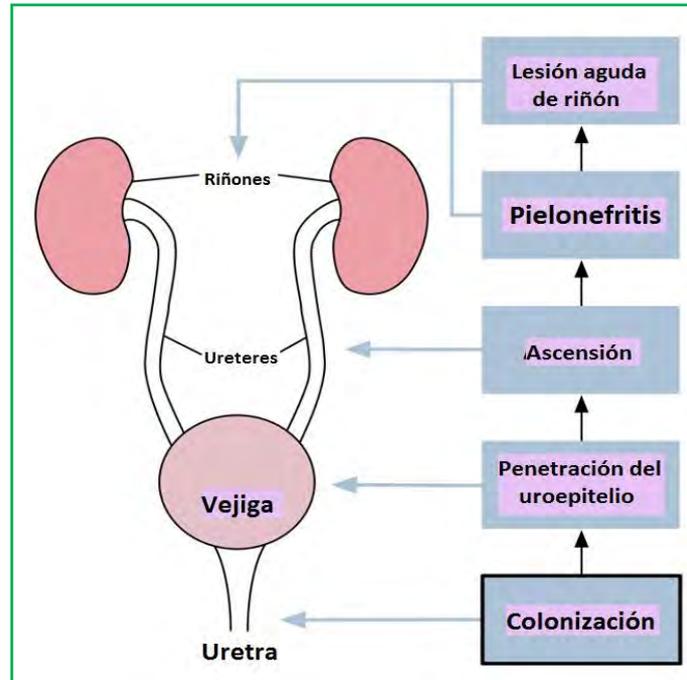


Figura 1 Patogénesis de infecciones del tracto urinario. Ruta ascendente de la colonización de bacterias en el tracto urinario. Modificada de www.pathophys.org/uti/

Cuando el patógeno asciende desde el área peri-uretral hacia la vejiga, la coloniza utilizando sus fimbrias para adherirse a su epitelio, así continua replicándose para formar biopelículas (biofilms) que protegen a la bacteria del tratamiento antimicrobiano. Cuando se encuentra un gran número de biopelículas, las bacterias continúan ascendiendo por los uréteres y pueden producir toxinas que inhiben el movimiento natural de los conductos y evitan su eliminación, como parte de su proceso de ascensión. Finalmente, la bacteria puede alcanzar el parénquima renal y causar una respuesta inflamatoria mejor conocida como pielonefritis. [2,9]

1.2 Manifestaciones clínicas

Los síntomas clásicos de infección de vías urinarias son: [5, 9]

- ✓ Disuria: Molestias urinarias inespecíficas referidas como ardor y escozor.
- ✓ Polaquiuria: Aumento en la frecuencia miccional.
- ✓ Urgencia miccional: Necesidad imperiosa e irrefrenable de orinar.
- ✓ Hematuria: sangre en orina
- ✓ Dolor supra-púbico
- ✓ Escalofrío y sudoración (fiebre)
- ✓ Dolor de espalda baja
- ✓ Náuseas y vómito

Dependiendo de la sintomatología que se presente se puede reconocer su causa probable y presumir a qué nivel se encuentra la infección (Cuadro 1). [9]

Cuadro 1. Causas asociadas a los síntomas presentados al realizar el diagnóstico de Infección del Tracto Urinario. [9]

Síntoma	Causa	Diagnóstico probable
Disuria	Se debe a inflamación aguda de la vejiga, resultando en dolor al orinar	Cistitis, uretritis, prostatitis, epididimitis
Polaquiuria y urgencia miccional	Reducción de la capacidad de la vejiga debido a edema e inflamación causando disminución de la capacidad de la vejiga y dolor por la distensión de la misma.	
Hematuria	Irritación y sangrado del tracto urinario durante la micción.	
Dolor suprapúbico	Debido a la compresión de la vejiga inflamada	
Escalofrío y sudoración	Proceso inflamatorio que desencadena la respuesta febril	Pielonefritis
Dolor de espalda baja	Edema renal repentino, provoca incremento en la presión y distensión capilar	

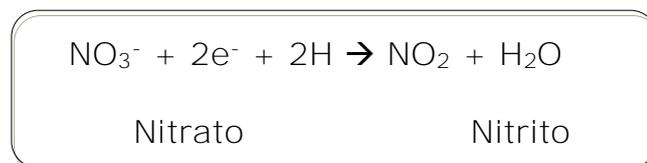
1.3 Identificación en el Laboratorio

Para la identificación de las ISTU se debe realizar el análisis mediante tira reactiva, el cual determina nitritos y esterasa leucocitaria, que son dos pruebas indirectas de la presencia de leucocitos en orina (piuria) y bacterias (bacteriuria). Los nitritos normalmente no se encuentran en orina, son producto de la reducción de nitratos por bacterias, se realiza para detectar una infección inicial de la vejiga, si el paciente es asintomático es de gran utilidad esta prueba. La esterasa leucocitaria se produce por los neutrófilos e indica que está llevándose a cabo un proceso de combate contra un agente externo al organismo.

Estas dos pruebas han demostrado su utilidad para el diagnóstico de las ISTU por tener una alta sensibilidad, además de ser una prueba muy económica. Sin embargo, en presencia de dos o más de los síntomas clásicos se puede iniciar el tratamiento. [5,10]

1.3.1 Reducción de Nitratos

La capacidad de ciertas bacterias para reducir el nitrato a nitrito. Estos microorganismos extraen el oxígeno de los nitratos para formar nitritos y otros productos de reducción, como se muestra en la siguiente reacción química: [10]



La presencia de nitritos en el medio de prueba se detecta por la reacción de Greiss: al agregar sulfanilamida al medio se une con el nitrito y forma tetra-hidro-benzoquinolina y una sal de diazonio la cual da como resultado un compuesto colorido (rosa). [10]

1.3.2 Esterasa leucocitaria

Esta prueba revela la presencia de esterases leucocitarias, evidenciándose al catalizar la hidrólisis de un éster ácido, que produce un compuesto aromático y ácido. El compuesto aromático se combina con una sal de diazonio que produce una coloración violeta.

Normalmente no existen leucocitos detectables en orina. La aparición de trazas en la orina es de relevancia clínica cuestionable, sin embargo sí se observan resultados positivos debe repetirse el estudio al paciente. En orinas de mujeres es posible encontrar leucocitos ocasionalmente debido a contaminación vaginal. Por ejemplo se considera que una piuria con más de 10 leucocitos por campo es altamente inespecífica, pero en presencia de síntomas urinarios, es sospecha de una infección.

[10]

1.3.3 Cultivo

Para diagnosticar una infección del tracto urinario es necesario que el patógeno sea cultivado en orina. Este cultivo puede dar un estimado del nivel de bacteriuria. Sin embargo, el nivel mínimo de bacteriuria en el cultivo demuestra la presencia de infección en el tracto urinario.

Según la Norma Oficial Mexicana para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de las infecciones nosocomiales (NOM-045-SSA2-2005) el nivel mínimo para el diagnóstico de ITU es de 50,000 UFC/mL [6]

Se realiza la siembra de 1 μ L de la muestra (orina de chorro medio), en agar sangre por estría radial, y en agar MacConkey con estría cruzada (identifica bacilos gramnegativos). Si se observa la presencia de más 50 colonias idénticas, se determina que la concentración es de 50,000 UFC/mL y se considera como bacteriuria. Es necesario el aislamiento de las colonias para su identificación posterior por métodos automatizados o por métodos manuales.

1.4 Tratamiento

Los tratamientos recomendados por la Secretaría de Salud para administrarse a menores de 18 años y a mujeres se muestran en los cuadros 2 y 3 respectivamente. [5,11]

Cuadro 2. Tratamiento recomendado para menores de 18 años con ITU. [11]

	Duración del tratamiento	Antimicrobiano	Características del paciente
Infección del tracto urinario, no complicada	10 días	Trimetoprim	Niños de 6 meses a 12 años
	10 días	Trimetoprim/sulfametoxazol	
	10 días	Cefixima	
Infección del tracto urinario bajo, no complicada		Trimetroprim/sulfametoxazol, amoxicilina, amoxicilina /ácido clavulánico, nitrofurantoína, o cefalosporinas de primera o segunda generación.	Niños de 3 meses o mayores (previa identificación del patógeno y sensibilidad a antimicrobianos)
Infección de tracto urinario superior	7-14 días	Amoxicilina-clavulanato o cefalosporinas de segunda generación orales.	Niños de 3 meses o mayores

Cuadro 3. Tratamiento recomendado para mujeres embarazadas y no embarazadas con ITU. [5]

	Duración del tratamiento	Antimicrobiano	Características del paciente
Infección del tracto urinario bajo, no complicada	3 días	Trimetoprim*	Mujeres menores de 60 años
	3 días	Nitrofurantoína	Mujeres no embarazadas
Infección aguda del tracto urinario bajo	3 días	Trimetoprim/sulfametoxazol	Mujeres no embarazadas
	7 días	Nitrofurantoína	
Infección de tracto urinario superior	7 días	Ciprofloxacina	Mujeres no embarazadas
	14 días	Amoxicilina o Amoxicilina/Ac. Clavulánico	Mujeres no embarazadas, con cultivo positivo para bacterias Gram positivas

* Si existe resistencia la alternativa es Fosfomicina 3gr dosis única

1.5 Etiología

Las ISTU son causadas tanto por bacterias gramnegativas como por grampositivas, y también por ciertos hongos. El agente causal más común, para infecciones no complicadas y complicadas, es *Escherichia coli* Uropatógena (UPEC). Aunque se han identificado a otros patógenos como: *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus* del grupo B, *Proteus mirabilis*,

Pseudomonas aeruginosa, *Staphylococcus aureus* y *Candida spp* como se ilustra en la figura 2. [2]

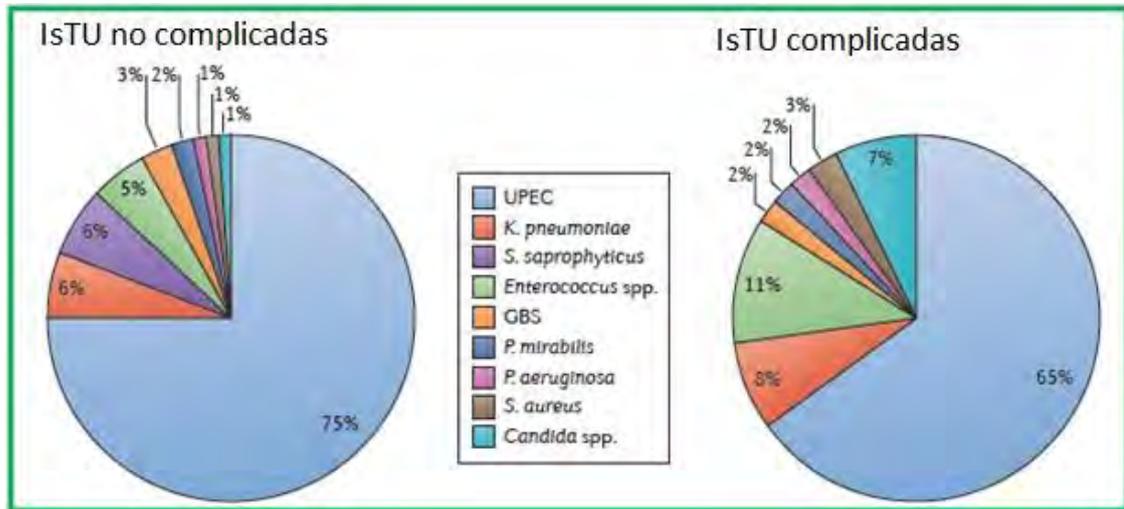


Figura 2. Agentes causales en ITU (porcentaje de frecuencias). (Tomado y modificado de [2])

1.6 Generalidades de *Escherichia coli*

Es un bacilo gramnegativo, corto con 1,1–1,5 μm de diámetro por 2,0–6,0 μm de largo que se encuentra de forma aislada o en parejas. Pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* es un microorganismo anaerobio facultativo con metabolismo fermentativo y respiratorio, no forma esporas, está desprovisto de oxidasa, produce catalasa y β -galactosidasa, puede ser móvil por flagelos peritricos o inmóvil y normalmente reduce nitrato a nitrito. [7]

1.7 Factores de riesgo

Entre los factores de riesgo más importantes para adquirir una ITU se encuentran el género y la edad, siendo las mujeres más susceptibles a

adquirir una ITU debido a la longitud de la uretra, que es más corta, y la distancia peri-uretral (periné- uretra) es menor. En cuanto a la edad, los hombres son más propensos a presentar una ITU a una edad mayor, ya que es más frecuente tener una hiperplasia prostática que obstruya los uréteres y promueva la colonización de patógenos. Las mujeres son más propensas a adquirir una ITU entre los 20 y 50 años de edad; en la figura 3 podemos ver estos factores, analizados en pacientes con pielonefritis tratada ambulatoriamente en una población surcoreana. [12]

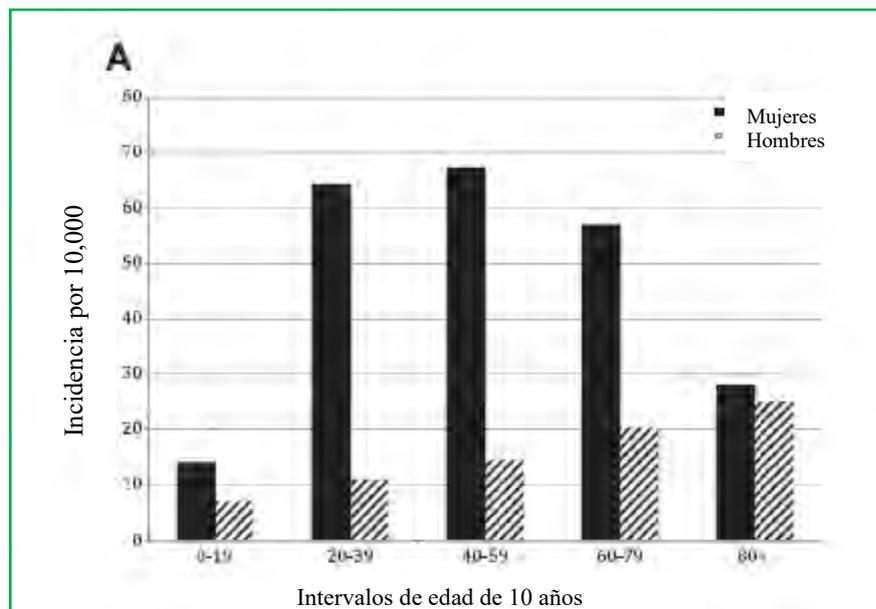


Figura 3. Incidencia anual de pielonefritis en pacientes ambulatorios, en Corea del Sur (Editado de [12])

Existen otros factores de riesgo asociados con la presencia de una ITU:

- Actividad sexual
- Uso de condón, diafragma, espermaticida
- Infección vaginal
- Embarazo
- Trauma/manipulación
- Diabetes
- Obesidad
- Susceptibilidad genética y anomalías anatómicas

1.8 Epidemiología

Las infecciones del tracto urinario son de las infecciones bacterianas más comunes, afectando a 150 millones de personas cada año en todo el mundo. [2]

La incidencia de IsTU es mayor en mujeres en comparación con hombres y se calcula que alrededor del 50% de todas las mujeres en el mundo han tenido al menos una infección del tracto urinario en el transcurso de su vida. Sin embargo, el tratamiento clínico se complica por el incremento de cepas uropatógenas multirresistentes a los antibióticos. [13]

El panorama epidemiológico, y la morbilidad de las IsTU en México, se han modificado desde mediados del siglo pasado por la presencia de un número cada vez mayor de enfermedades crónicas transmisible y no transmisible. A pesar de esto persiste una alta carga de morbilidad por enfermedades del rezago, mismas que se encuentran registradas dentro del Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica (SUIVE), como parte de las 20 causas principales de enfermedad a nivel nacional. Dentro de estas patologías encontramos en tercer lugar a las IsTU.

Dentro del registro semanal de enfermedades sujetas a Vigilancia Epidemiológica, se puede apreciar que la notificación de casos por las principales causas de enfermedad en la población mexicana es relativamente constante, es decir a lo largo de los últimos ocho años no

se han presentado variaciones relevantes dentro de los primeros siete lugares a nivel nacional como se puede observar en la figura 4.

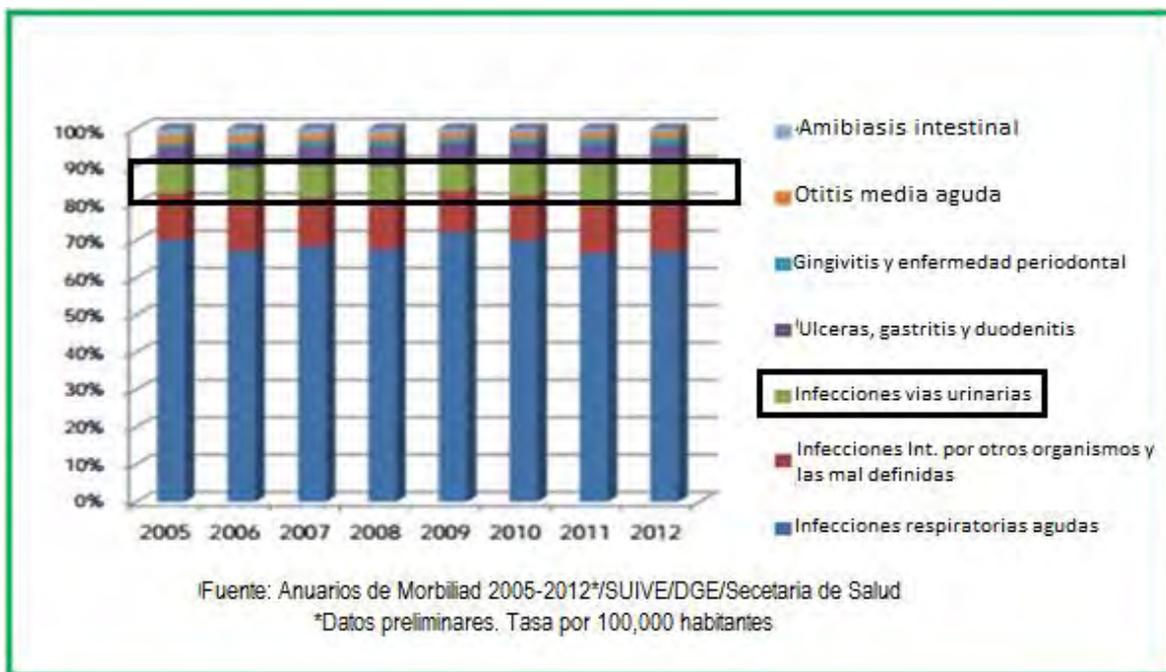


Figura 4. Incidencia de las principales causas de enfermedad en México. (Editada de SINAVE/DGE/Salud 2014)

En 2013 las infecciones de vías urinarias se mantuvieron como una de las principales causas de morbilidad. Siendo *Escherichia coli* el principal agente causal con más del 90% de las infecciones. Es muy probable que exista un subregistro en el número de casos de ISTU reportados en nuestro país, por lo que se considera un problema importante a nivel de salud pública. [14]

2. Infecciones Causadas por *Escherichia coli*

E. coli es la especie bacteriana más común en la microbiota intestinal; Dentro del intestino de individuos sanos no produce daño, sin embargo, en pacientes inmunocomprometidos o cuando las barreras de defensa del tracto gastrointestinal son alteradas y la bacteria sale de su hábitat natural, causa enfermedad. Tiene una prevalencia del 75% al 95% en mujeres, mientras que otras bacterias como *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus saprophyticus* tiene de un 5-15% de prevalencia. En hombres adultos *E. coli*, también es la especie bacteriana más frecuente. [7,15]

Las infecciones relacionadas con *E. coli* pueden limitarse a las mucosas o diseminarse por todo el organismo ocasionando infecciones del tracto urinario, septicemias, meningitis y diarreas. A las cepas de *E. coli* que por sus factores de virulencia causan infecciones en humanos, se les ha nombrado patotipos y se agrupan de la siguiente manera:

Intestinales [7]

- *E. coli* enterotoxigénica (ETEC)
- *E. coli* enterohemorrágica (EHEC)
- *E. coli* enteropatógena (EPEC)
- *E. coli* enteroinvasiva (EIEC)
- *E. coli* enteroagregativa (EAEC)
- *E. coli* con adherencia difusa (DAEC)

Extraintestinales ^[7]

- *E. coli* uropatógena (UPEC)
- *E. coli* asociada a meningitis (MAEC)

2.1 *Escherichia coli* uropatógena

Las cepas extraintestinales de *E. coli* han mantenido la habilidad de existir en el intestino sin consecuencias hacia el hospedero, pero tienen la capacidad de diseminarse y colonizar otros sitios, causando enfermedad extraintestinal, incluyendo: meningitis neonatal, sepsis, neumonía nosocomial, osteomielitis, infecciones de tejido blando, infecciones en heridas e infecciones del tracto urinario. ^[16]

2.2 Factores de virulencia

El éxito de la colonización y el establecimiento de una ITU por cepas UPEC se basa en la capacidad de la bacteria para adherirse a superficies como mucosas, epitelio urinario o tejido renal. Los factores de virulencia más importantes en cepas UPEC son: fimbria P, pili tipo I, hemolisina, factor citotóxico necrotizante 1 y fimbria S (Cuadro 4). ^[17]

Cuadro 4. Factores de virulencia de cepas UPEC. [7]

	Factor	Función
Factores de virulencia de superficie	Pili tipo 1 FimH Fimbria P Fimbria S y F1C	Adherencia e invasividad
	LPS	Endotoxina y antígeno O
	Flagelos	Movilidad
	Cápsula	Antifagocítica, Efecto anticomplemento
Factores de virulencia secretados	HlyA	Hemolisina
	CNF-1	Citotoxina
	Sat	Toxina vacuolizante
Sistemas de captación de hierro	Aerobactina	Captación de Hierro
	Enterobactina	

2.3 Serotipificación

La clasificación tradicional de las cepas *E. coli* está basada en la estructura antigénica de su superficie bacteriana, formada por tres clases de antígenos:

- Somáticos (O)
- Polisacárido capsular (K)
- Flagelar (H)

El serotipo se refiere a la identificación de dos o tres antígenos de superficie de *E. coli* (O, K, H), mientras que el serogrupo únicamente se

refiere al antígeno somático (O). Se han descrito más de 180 serogrupos para las cepas de *E. coli*; el perfil de virulencia está relacionado con el serogrupo, por lo cual es aceptado como un marcador de patogenicidad para *E. coli*. Los serogrupos frecuentemente asociados con UPEC son 14: O1, O2, O4, O6, O7, O8, O15, O16, O18, O21, O22, O25, O75 y O83. [7, 16, 18, 19]

El antígeno "O" forma parte del lipopolisacárido (LPS) presente en la membrana externa de las bacterias gramnegativas (Figura 5), está compuesto por unidades repetidas de oligosacáridos (unidades-O). [18]

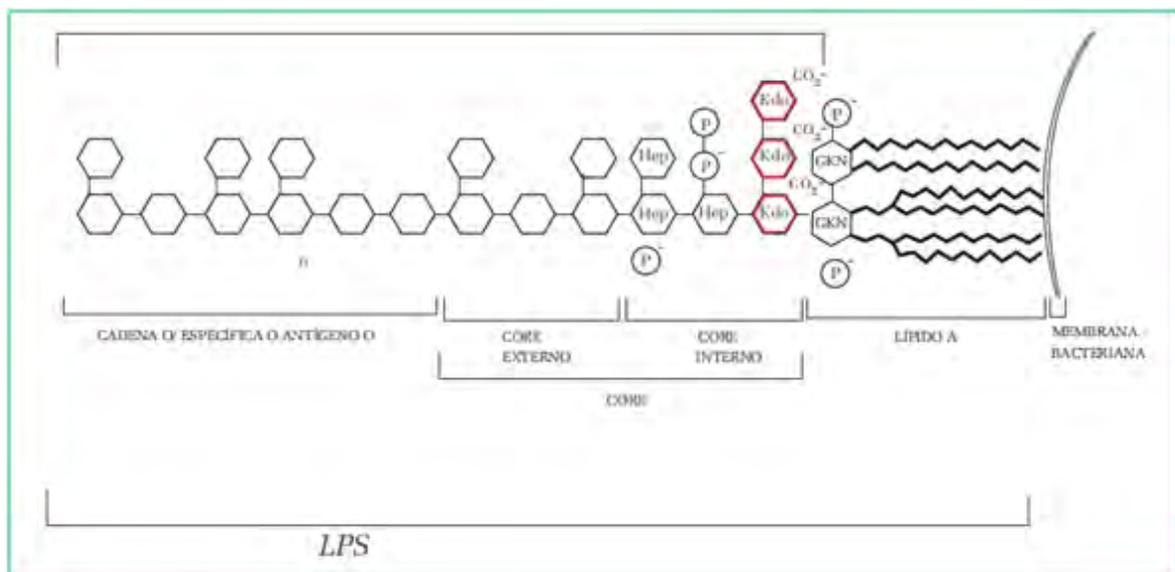


Figura 5. Estructura general del lipopolisacárido en bacterias gramnegativas. (Tomada de <http://www.scielo.org.co/pdf/rmv/n19/n19a04.pdf>)

2.4 Antimicrobianos

Los antimicrobianos pueden ser clasificados de distintas formas, por su efecto bactericida o bacteriostático, dependiendo de la concentración del fármaco. Los antimicrobianos con características bacteriostáticas inhiben el crecimiento bacteriano, pero no destruyen a la bacteria; mientras que los antimicrobianos bactericidas destruyen a la bacteria ambas en concentraciones adecuadas para el paciente. Para cualquiera de los casos el sistema inmune juega un papel muy importante tanto al eliminar la bacteria que no puede crecer por el efecto bacteriostático, como para eliminar los restos de bacterias que han muerto por el efecto bactericida. [20]

Los antimicrobianos también son clasificados por su mecanismo de acción en:

- Inhibidores de la síntesis de pared celular
 - β -Lactámicos como las penicilinas y cefalosporinas inhiben la transpeptidación para formar el peptidoglucano.
 - Glicopéptidos como la vancomicina inhiben los primeros pasos de la síntesis de peptidoglucano
- Inhibidores de la síntesis de ADN
 - Rifampicina bloquea la formación del ARNm.
 - Ácido Nalidixico y Quinolonas bloquean la ADN girasa.
- Alteradores de la permeabilidad de la membrana celular. Como la Anfotericina B.

- Competidores de metabolitos como trimetoprim y sulfonamida bloqueando enzimas del metabolismo del folato.
- Inhibidores de la síntesis proteica como el cloramfenicol, tetraciclinas, eritromicina y aminoglucósidos que bloquean al ribosoma. [21,22]

En la figura 6 podemos observar en conjunto los diferentes mecanismos de acción de los antimicrobianos.

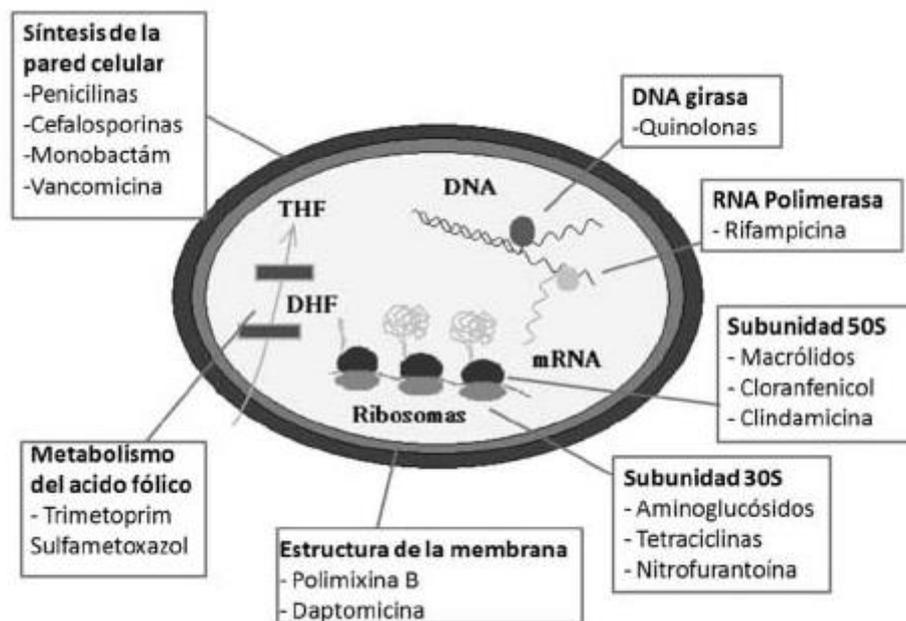


Figura 6. Mecanismos de acción de antimicrobianos. Tomada y adaptada de [21].

En el cuadro 5 se resumen los efectos y mecanismos de acción de las diferentes familias de antimicrobianos utilizadas en el presente trabajo.

Cuadro 5. Características y mecanismos de acción de las diferentes familias de antimicrobianos [23]

Familia de antimicrobianos	Efecto Primario	Mecanismo de acción
Inhibición de la síntesis de la pared celular		
Penicilinas Cefalosporinas	Bactericidas	Inhiben a las enzimas que sintetizan la pared celular.
Inhibición de la síntesis proteica		
Aminoglucósidos	Bactericidas	Bloquean a la subunidad ribosómica pequeña (30s) inhibiendo directamente la síntesis de proteínas.
Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos		
Quinolonas	Bactericidas	Inhiben la DNA girasa bloqueando así la replicación del DNA y la transcripción
Antimetabolitos		
Sulfonamidas	Bacteriostático	Inhibe la síntesis de ácido fólico
Trimetoprima	Bacteriostático	Bloquea la síntesis de ácido fólico.
Otros		
Nitrofurantoína	Bacteriostático y Bactericida	Lesiona el DNA Inhibe la síntesis de la pared celular Inhibe la síntesis de proteínas

2.5 Resistencia a antimicrobianos

La membrana externa de las bacterias gramnegativas es una barrera permeable que no permite la entrada a sustancias de gran tamaño, mientras que permite que moléculas pequeñas penetren a través de canales proteicos llamados porinas, estas forman canales embebidos en la membrana externa que regulan la entrada de algunos elementos, entre ellos, los antimicrobianos. La ausencia o mutación de estas porinas disminuye su permeabilidad a los antimicrobianos.

Otro tipo de cambio que provoca la resistencia de los antimicrobianos es el transporte activo a través de la membrana celular (cambios o mutaciones). Algunos mecanismos de resistencia están dados de manera natural, es decir, sin mutaciones, como las bombas de salida, que toman el fármaco del espacio periplásmico expulsándolo al exterior, evitando que llegue a su sitio de acción. También se pueden dar alteraciones en el sitio donde el antimicrobiano se une a la bacteria para interrumpir una función vital de ésta. Finalmente, se puede llevar a cabo la inactivación farmacológica, la cual es una de las principales causas de resistencia, la bacteria puede expresar enzimas capaces de crear cambios en la estructura del antimicrobiano provocando que pierda su funcionalidad. [21,22]

La alta prevalencia de ISTU sintomáticas, combinada con altos niveles de resistencia a antimicrobianos como fluoroquinolonas y betalactámicos es uno de los problemas más grandes en los sistemas de salud pública de países de América Latina. [24]

II. JUSTIFICACIÓN

Las ISTU son consideradas un problema de salud pública, debido a su alta incidencia. En México durante el 2012, se reportaron 4,009,700 casos, se calculó una tasa de incidencia de 3,430 por cada 100,000 habitantes, por lo que se encuentran entre los primeros causantes de morbilidad en México.

Debido a esto se tiene la necesidad de identificar los serogrupos de *E. coli* que presentan mayor incidencia de infección, e identificar una posible asociación con la resistencia antimicrobiana en la población analizada y de este modo contribuir en la actualización del tratamiento y disminuir la incidencia de resistencia y las complicaciones propias de las ISTU.

III. HIPÓTESIS

Las infecciones de tracto urinario causadas por cepas de *E. coli* uropatógenas presentan una relación directa entre el serogrupo y la resistencia a antibióticos.

IV. OBJETIVOS

1. General

- ❖ Determinar si existe asociación de los serogrupos uropatógenos con la resistencia a antimicrobianos en cepas de *E. coli* aisladas de pacientes con ITU.

2. Específicos

- ❖ Determinar la resistencia a antibióticos de las cepas de *E.coli* aisladas de pacientes ambulatorios.
- ❖ Identificar el serogrupo más frecuente en la población estudiada de pacientes con infección del tracto urinario.
- ❖ Identificar si existe relación entre el serogrupo y la resistencia a antibióticos.

V. MÉTODO

1. Diseño del estudio

Se realizó un estudio retrospectivo con aislados clínicos de pacientes, recolectados durante el año 2013, donadas por la Clínica #61 del IMSS.

2. Población

Se seleccionaron 64 aislados clínicos, a partir de muestras de orina, tomadas de pacientes ambulatorios con un diagnóstico probable de ITU no complicada, durante el año 2013.

3. Tamaño de la muestra

Tomando en cuenta una prevalencia estimada de 3,430 por cada 100,000 (3%), un nivel de confiabilidad del 95% y un margen de error del 5% se calcularon el tamaño de muestra con la siguiente fórmula:

$$n = \frac{(1.96)^2 \left[\frac{t^2 p(1-p)}{m^2} \right]}{(0.05)^2}$$

$$\boxed{n = 45}$$

t= Nivel de confiabilidad del 95% (1.96)

p= Prevalencia estimada

m= Margen de error del 5% (0.05)

4. Criterios de inclusión

- Aislados clínicos de pacientes ambulatorios que hayan sido recolectados durante el año 2013

5. Criterios de exclusión

- Pacientes inmunocomprometidos
- Pacientes embarazadas
- Pacientes con diabetes
- Pacientes con infección adicional al tracto urinario

VI. Metodología

1. Determinación de la resistencia a antimicrobianos

1.1 Difusión en disco

Para evaluar la susceptibilidad antimicrobiana se realizó el método de difusión en disco Kirby-Bauer ^[25], en agar Mueller Hinton (Bioxon, México). Se probaron 21 diferentes antimicrobianos para cada cepa.

En el cuadro 6 se especifican los antimicrobianos utilizados, así como la concentración de los discos y las medidas que identifican resistencia o sensibilidad de estos a la cepa de referencia de *E. coli* ATCC 25922, con base en lo especificado en el manual para las pruebas de sensibilidad a antimicrobianos [Clinical and Laboratory Standar Institute (CLSI)]. ^[26]

Cuadro 6. Antimicrobianos utilizados y especificaciones para la interpretación de la prueba de difusión en disco [26]

	Antimicrobiano	Siglas	Conc. (µg)	Diámetro del halo de inhibición (mm)	
				R	S
Penicilinas	Piperacilina	PRL	100	≤17	≥18
	Ticarcilina/Ac Clavulánico	TIM	70/10	≤14	≥15
	Carbenicilina	CAR	100	≤19	≥20
	Amoxicilina/Ac Clavulánico	AMC	20/10	≤13	≥14
Cefalosporinas	Ampicilina	AM	10	≤13	≥14
	Cefazolina	KZ	30	≤14	≥15
	Cefuroxima	CFX	30	≤14	≥15
	Ceftazidima	CAZ	30	≤14	≥15
	Ceftriaxona	CRO	30	≤13	≥14
Aminoglucósidos	Cefepime	FEP	30	≤14	≥15
	Tobramicina	TOB	10	≤12	≥13
	Gentamicina	GM	10	≤12	≥13
Quinolonas	Amikacina	AMK	30	≤14	≥15
	Ac. Nalidíxico	NA	30	≤13	≥14
	Norfloxacin	NOR	10	≤12	≥13
	Ciprofloxacina	CIP	5	≤15	≥16
Carbapenems	Ofloxacina	OFX	5	≤12	≥13
	Meropenem	MEM	10	≤13	≥14
Antifolatos	Fosfomicina	FO	200	≤12	≥13
	Nitrofurantoína	MAC/F	300	≤14	≥15
	Trimetoprim/sulfametoxazol	TSX	1.25/23.75	≤10	≥11

A partir de un cultivo de 24h, se realizó una suspensión bacteriana al estándar 0.5 en la escala de MacFarland (1.5×10^8 UFC/ml) y se inoculó en placas de agar Mueller-Hinton, cubriendo de manera uniforme la superficie de la placa. Se colocaron los discos impregnados con los antimicrobianos a estudiar y se incubaron 18 h a 35°C. Además de las cepas analizadas se incluyó la cepa de *E. coli* ATCC 25922 como control de calidad para esa prueba.

Después de la incubación se midió el diámetro de los halos de inhibición para cada uno de los discos, la interpretación de los resultados se realizó de acuerdo a las especificaciones del cuadro 6. [26]

2. Extracción de DNA genómico

A partir de un cultivo de 18 h de cada cepa en caldo Luria, se realizó la extracción del DNA genómico con el kit comercial Axy Prep Bacterial Genomic DNA miniprep (Axygen, EUA), siguiendo las instrucciones del fabricante. Posteriormente, se verificó la integridad del DNA obtenido corriendo la muestra en un gel de agarosa al 0.8% a 100V por 45 min.

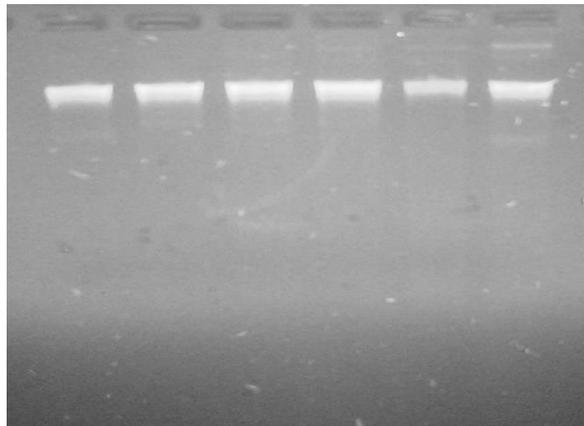


Figura 7. Verificación de la integridad del DNA genómico. Electroforesis en gel de agarosa al 0.8% en el cual se aprecia la integridad del DNA genómico total de algunas de las cepas estudiadas. Todas las muestras se encuentran en la zona de alto peso molecular, se observa calidad suficiente para utilizarse en la PCR.

3. Identificación del serogrupo

3.1 PCR múltiple

El ensayo se realizó conforme a lo descrito por Li D. y col. ^[18] Cada reacción se realizó a un volumen final de 26 μ L, se hicieron dos mezclas diferentes (grupo 1 y grupo 2); colocando 1 μ L de DNA (1pg), 1 μ L de cada uno de los 7 iniciadores (grupo 1 0.3pmol/mL, grupo 2 0.5pmol/mL), 1 μ L de H₂O y 10 μ L de Master Mix 2X (Hot Star Taq DNA Polimerase, dNTPs en buffer de PCR optimizado; Thermo Scientific).

Para la búsqueda de los 14 serogrupos reportados como uropatógenos, se dividieron en dos partes y las condiciones de PCR empleadas fueron las siguientes:

Grupo 1 → desnaturalización inicial a 95°C por 5 min, después 30 ciclos de: desnaturalización a 95°C por 30 s, alineación 57°C por 1 min, y extensión a 72°C por 1 min; y una extensión final a 72°C por 5 min, realizada al final de estos ciclos.

Grupo 2 → desnaturalización inicial a 95°C por 5 min, después 30 ciclos de: desnaturalización a 95°C por 30 s, alineación 59°C por 1 min, y extensión a 72°C por 1 min; y una extensión final a 72°C por 5 min, realizada al final de estos ciclos.

Se realizó el corrimiento electroforético de los productos de PCR, en un gel de agarosa al 1.5 % (Agarose Molecular Biology Grade Vivantis Inc., EUA) con colorante Midori Green DNA®, se corrió a 100V durante 1 hora 20 min; las bandas del DNA fueron visualizadas con un transiluminador de luz UV, comparándolas con un marcador de peso molecular de 100pb (Fermentas, EUA) y asignando así el valor para cada una.

En los cuadros 7 y 8 se muestran las secuencias de cada uno de los 14 iniciadores utilizados por grupo. ^[18]

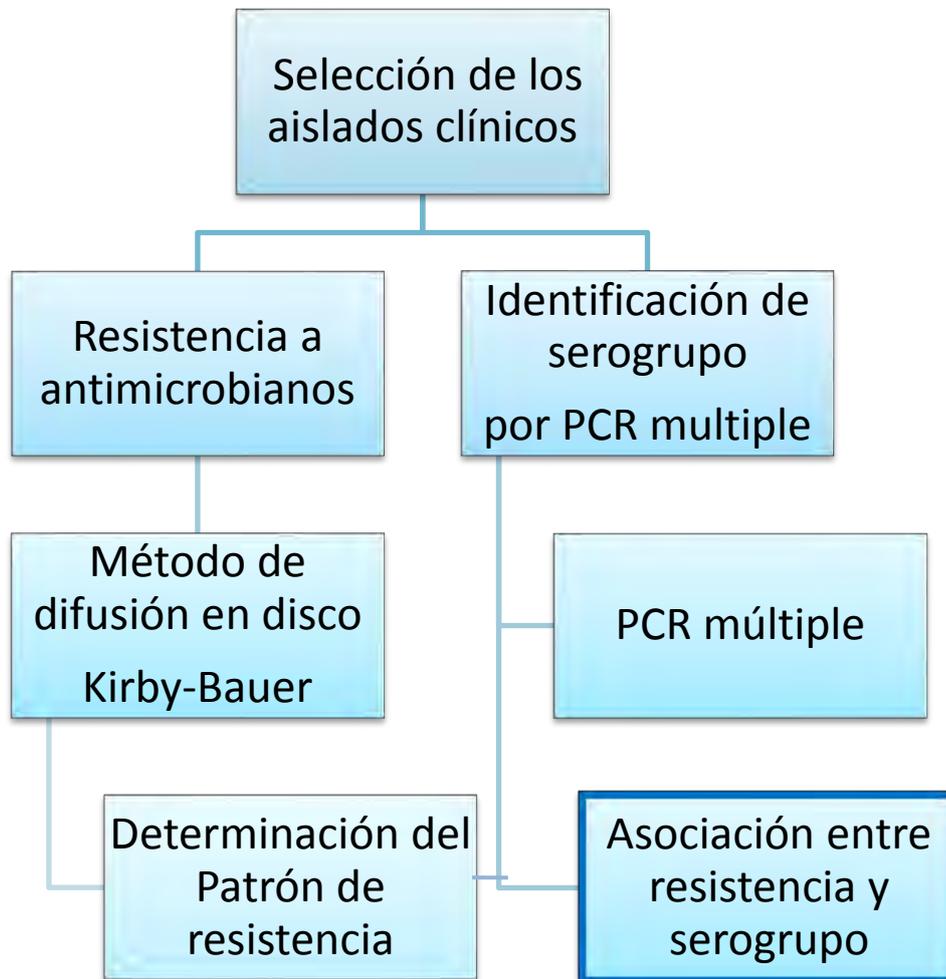
Cuadro 7. Secuencias de iniciadores de PCR-Múltiple para identificación del serogrupo del Grupo 1

	SEROGRUPO	SECUENCIA DEL INICIADOR (5'-3')	TAMAÑO DE LA BANDA (pb)	GEN
GRUPO 1	O1	(F)GTGAGCAAAGTGAAATAAGGAACG (R)CGCTGATACGAATACCATCCTAC	1098	wzx
	O6	(F)GGATGACGATGTGATTTTGGCTTAAC (R)TCTGGGTTTGCTGTGTATGAGGC	783	wzy
	O7	(F)CTATCAAAATACCTCTGCTGGAATC (R)TGGCTTCGAGATTAACCTATTCT	610	wzx
	O8	(F)CCAGAGGCATAATCAGAAATAACAG (R)GCAGAGTTAGTCAACAAAAGGTCG	448	Orf48 6
	O16	(F)GGTTTCAATCTCACAGCAACTCAG (R)GTTAGAGGCATAATAGCCAAGCGC	302	wzx
	O21	(F)CTGCTGATGTCGCTATTATTGCTG (R)TGAAAAAAGGGAAACAGAAGAGCC	209	wzx
	O75	(F)GAGATATACATGGGGAGGTAGGCT (R)ACCCGATAATCATATTCTTCCAAC	511	wzy

Cuadro 8. Secuencias de iniciadores de PCR-Múltiple para identificación del serogrupo del Grupo 2

	SEROGRUPO	SECUENCIA DEL INICIADOR (5'-3')	TAMAÑO DE LA BANDA (pb)	GEN
GRUPO 2	O2	(F)AGTGAGTTACTTTTTAGCGATGGAC (R)AGTTTAGTATGCCCTGACTTTGAA	770	wzy
	O4	(F)TTGTTGCGATAATGTGCATGTTCC (R)AATAATTTGCTATACCCACACCCTC	664	wzx
	O15	(F)TCTTGTTAGAGTCATTGGTGTATCG (R)ATAAAACGAGCAAGCACCACACC	183	wzy
	O18	(F)GTTTCGGTGGTTGGATTACAGTTAG (R)CTACTATCATCCTCACTGACCACG	551	wzx
	O22	(F)TTCATTGTCGCCACTACTTTCCG (R)GAAACAGCCCATGACATTACTACG	468	wzx
	O25	(F)AGAGATCCGTCTTTTATTTGTTTCGC (R)GTTCTGGATACCTAACGCAATACCC	230	wzy
	O83	(F)GTACACCAGGCAAACCTCGAAAG (R)TTCTGTAAGCTAATGAATAGGCACC	362	wzx

4. Algoritmo general de trabajo



VII. RESULTADOS

1. Resistencia a antimicrobianos

Después de llevar a cabo la prueba de difusión en disco Kirby-Bauer se agruparon en el cuadro 9 los resultados en frecuencia y porcentaje de resistencia.

Cuadro 9. Susceptibilidad antimicrobiana de los 64 aislados clínicos analizados, expresada en resistencia y su porcentaje.

	Antibiótico	Abreviatura	Resistencia No. (%)
Penicilinas*	Piperacilina	PRL	44 (69)
	Ticarcilina/Ac Clavulánico	TIM	57 (89)
	Carbenicilina	CAR	57 (89)
	Amoxicilina/Ac Clavulánico	AMC	41 (64)
Cefalosporinas*	Ampicilina	AM (AMP)	56 (87)
	Cefazolina	KZ	39 (61)
	Cefuroxima	CFX	37 (58)
	Ceftazidima	CAZ	13 (20)
	Ceftriaxona	CRO	18 (28)
Aminoglucósidos**	Cefepima	FEP	8 (13)
	Tobramicina	TOB	22 (34)
	Gentamicina	GM	19 (30)
	Amikacina	AMK	1 (1)
Quinolonas***	Ac. Nalidíxico	NA	50 (78)
	Norfloxacin	NOR	35 (55)
	Ciprofloxacina	CIP	37 (58)
Carbapenema*	Ofloxacin	OFX	35 (55)
	Meropenem	MEM	21 (33)
	Fosfomicina*	FO	4 (6)
	Nitrofurantoína****	F	5 (8)
	Trimetoprim/sulfametoxazol	TXS	54 (84)

*Inhibidores de la síntesis de pared celular

** Inhibidores de la síntesis de proteínas

*** Inhibe la síntesis de DNA

**** Todas las anteriores

Se estudiaron 64 aislados clínicos provenientes de pacientes de la clínica #61 del IMSS, obteniéndose altos niveles de resistencia para: carbenicilina y ticarcilina con 57 (89%) cepas cada uno; ampicilina con 56 (87%); trimetoprim/sulfametoxazol 54 (84%), y ácido nalidíxico 50 (78%); Mientras que los niveles más bajos de resistencia fueron para amikacina 1 (1%); fosfomicina 4 (6%), nitrofurantoína 5 (8%) y cefepima 8 (13%), como se muestra en la figura 8, la resistencia a las penicilinas y quinolonas es la más frecuente.

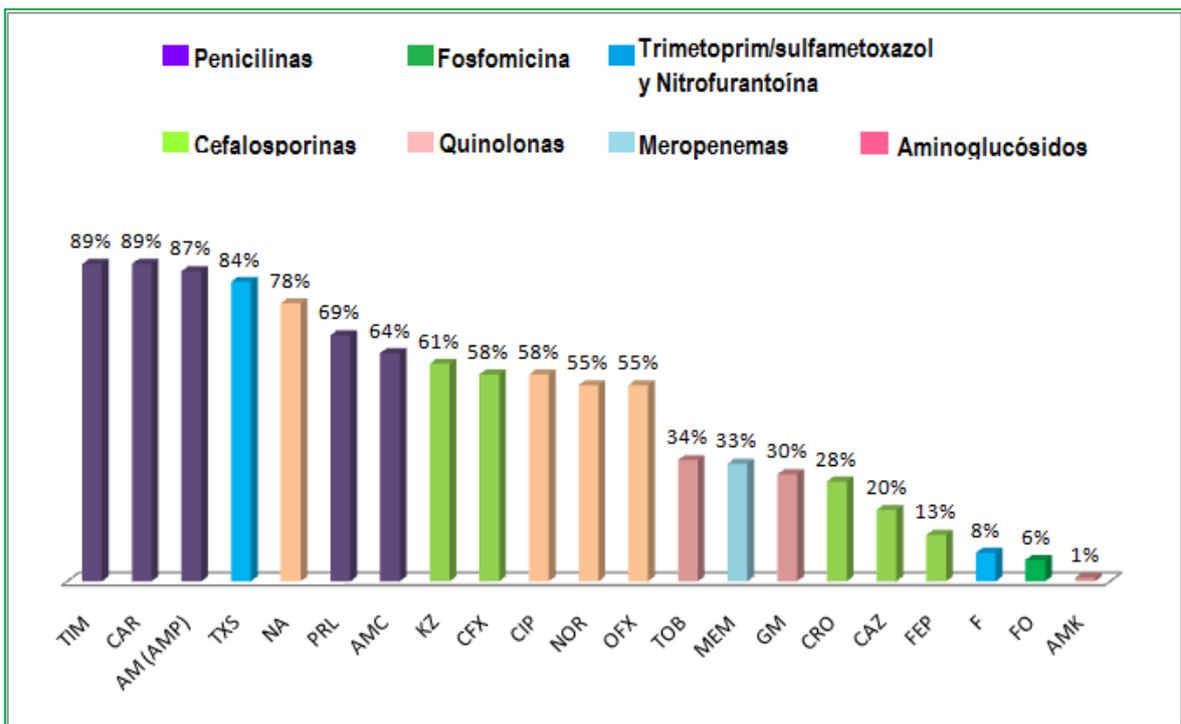


Figura 8. Resistencia a antimicrobianos

Con los resultados de la resistencia a los diferentes antimicrobianos para cada aislado, se identificaron los patrones de resistencia, en el cuadro 10 se observa la frecuencia de los diferentes patrones identificados.

Cuadro 10. Patrones de resistencia por grupos de antibióticos

#Patrón	Patrón de Resistencia	Mismo patrón
1	BL	2
2	BL, TSX	6
3	BL, Qui	1
4	BL, Cef, Qui	3
5	BL, Cef, TSX	3
6	BL, Qui, TSX	6
7	BL, Ami, Qui, TSX	2
8	BL, Cef, Ami, Qui	3
9	BL, Cef, Ami, TSX	2
10	BL, Cef, F, TSX	1
11	BL, Cef, Qui, TSX	15
12	BL, Qui, F, TSX	1
13	BL, Cef, Ami, Qui, TSX	15
14	BL, Cef, Qui, F, TSX	1
15	BL, Cef, Qui, FO, TSX	1
16	BL, Cef, Ami, Qui, F, TSX	2

BL: Betalactámicos; Cef: Cefalosporinas 1ra, 2da, 3ra, 4ta generación;
 Ami: aminoglucósidos; Qui: Quinolonas;
 F: Nitrofurantoína; TSX: Trimetoprim/sulfametoxazol.

Los resultados muestran variedad fenotípica en la resistencia a antimicrobianos en cepas UPEC, obteniéndose 16 patrones de resistencia para las 64 cepas analizadas, considerándose multirresistentes las cepas resistentes a más de tres antimicrobianos de familias diferentes (MDR: 94%), lo cual es considerado como un problema serio de salud pública. Es de resaltar que todos los aislados

analizados fueron resistentes al menos a un antimicrobiano del grupo de los betalactámicos.

2. Identificación del serogrupo mediante PCR.

Se identificó el serogrupo en 26 (40.6%) de los 64 aislados de *E. coli*, se encontraron siete diferentes serogrupos, el O25 fue el de mayor frecuencia con 14 aislados identificados (53.8%), seguido de O75 con 5 aislados (19.2%), como se muestra en el cuadro 11, los aislados a los cuales no se identificó el serogrupo mediante PCR múltiple representan el 59% del total de los aislados.

Cuadro 11. Resultados de la identificación del serogrupo uropatógeno de los aislados clínicos de *E. coli*.

Serogrupo	Número de aislados
O6	1
O8	3
O15	1
O18	1
O25	14
O75	5
O83	1
NI *	38

*No identificado

En la figura 9 se puede observar un ejemplo de cómo se visualiza la prueba de PCR múltiple, en donde se incluyen 7 controles positivos que ayudan a identificar a las muestras positivas.

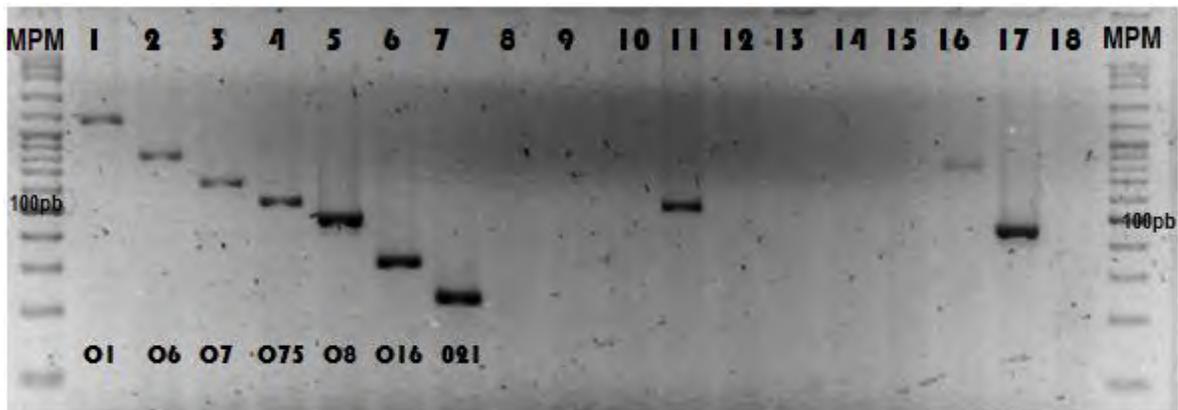


Figura 9. Electroforesis de los amplificados de PCR en gel de agarosa para el grupo 1. Carriles: 1(control + O1), 2 (control + O6), 3 (control + O7), 4 (control + O75), 5 (control + O8), 6 (control + O16), 7 (control + O21), 8 (control -), 9-18 Muestras. En el carril 11, 16 y 17 se pueden identificar muestras positivas a los serogrupos O75, O6 y O8 respectivamente. MPM: marcador de peso molecular.

3. Asociación entre resistencia y serogrupo

Con los resultados de patrón de resistencia e identificación del serogrupo uropatógeno se observó asociación entre estos. En el cuadro 12 se muestra que en el caso de los patrones 11 y 13, presentan el mayor número de aislados 30/64 (46.8%) y corresponden al serogrupo O25, aunque la mayoría de los aislados no fueron identificados con alguno de los serogrupos uropatógenos, para estos casos es necesario realizar la serotipificación tradicional, y de este modo poder hacer un análisis más preciso sobre la asociación de estos dos parámetros, ya

que al no tener un serogrupo definido para los patrones de resistencia no es posible determinar si hay relación entre sí.

Cuadro 12. Asociación entre el patrón de resistencia y el serogrupo. En este cuadro se muestran también los aislados que no fueron identificados por la técnica de PCR múltiple.

# De Patrón de resistencia	Patrón de Resistencia	Mismo patrón	Serogrupo
1	BL	2	O18 (1)
2	BL, TSX	6	NI
3	BL, Qui	1	NI
4	BL, Cef, Qui	3	O8(2), O6(1)
5	BL, Cef, TSX	3	O83(1)
6	BL, Qui, TSX	6	O75(3), O25(2), O15(1)
7	BL, Ami, Qui, TSX	2	NI
8	BL, Cef, Ami, Qui	3	O8(1), O25 (2)
9	BL, Cef, Ami, TSX	2	NI
10	BL, Cef, F, TSX	1	NI
11	BL, Cef, Qui, TSX	15	O25(1)
12	BL, Qui, F, TSX	1	O75(1)
13	BL, Cef, Ami, Qui, TSX	15	O25(9)
14	BL, Cef, Qui, F, TSX	1	O75(1)
15	BL, Cef, Qui, FO, TSX	1	NI
16	BL, Cef, Ami, Qui, F, TSX	2	O8(1)

NI: No identificado

Ya que se espera encontrar una asociación entre resistencia y serogrupo se separaron los resultados de las muestras con serogrupo no identificado y como se puede observar en el cuadro 13 el serogrupo O25 se puede asociar al patrón 13, en el cuadro también se observa que a excepción del aislado identificado con el serogrupo O18, todas son multirresistentes.

Cuadro 13. Serogrupo y Patrones de resistencia

Serogrupo	Patrón de resistencia	MDR
O6	BL, Cef, Qui	✓
O8	BL, Cef, Ami, Qui, F, TSX	✓
O8	BL, Cef, Ami, Qui	✓
O8	BL, Cef, Qui	✓
O15	BL, Qui, TSX	✓
O18	BL	-
O25	BL, Cef, Ami, Qui	✓
O25	BL, Cef, Ami, Qui	✓
O25	BL, Cef, Ami, Qui, TSX	✓
O25	BL, Cef, Ami, Qui, TSX	✓
O25	BL, Cef, Ami, Qui, TSX	✓
O25	BL, Cef, Ami, Qui, TSX	✓
O25	BL, Cef, Ami, Qui, TSX	✓
O25	BL, Cef, Ami, Qui, TSX	✓
O25	BL, Cef, Ami, Qui, TSX	✓
O25	BL, Cef, Ami, Qui, TSX	✓
O25	BL, Cef, Qui, TSX	✓
O25	BL, Qui, TSX	✓
O25	BL, Qui, TSX	✓
O75	BL, Cef, Qui, F, TSX	✓
O75	BL, Qui, F, TSX	✓
O75	BL, Qui, TSX	✓
O75	BL, Qui, TSX	✓
O75	BL, Qui, TSX	✓
O83	BL, Cef, TSX	✓

BL: Betalactámicos; Cef: Cefalosporinas 1ra, 2da, 3ra, 4ta generación;
Ami: aminoglucósidos; Qui: Quinolonas;
F: Nitrofurantoína; TSX: Trimetoprim/sulfametoxazol.

VIII. DISCUSIÓN

Los resultados de resistencia a antimicrobianos nos muestran un 92% de cepas multirresistentes. En México hay variabilidad en lo reportado por diferentes autores; Molina, *et al.* 2011 ^[13] indica que el 30.2% de las cepas analizadas son multirresistentes, mientras que Paniagua, *et al.* 2015 ^[27] encontró un 97% de multirresistencia, en una población similar a la estudiada en este trabajo. Derakhshandeh *et al.*, 2014 ^[28], muestra también una alta multirresistencia con 82.35%. Esta alta incidencia complica el manejo de las infecciones del tracto urinario y promueve la recurrencia en los pacientes que ya han cursado con la enfermedad en algún periodo de su vida.

La resistencia a antimicrobianos se ve aumentada año con año, debido a diferentes factores como el uso indiscriminado de antibióticos, que aunque ya es más controlado aún hay lugares donde no se necesita receta médica para su adquisición; también la selección de cepas resistentes dentro de la población es un factor determinante para este aumento en la resistencia.

Los resultados obtenidos por Arredondo-García *et al.* 2008 ^[29] en la Ciudad de México, indican que hay un alto porcentaje de resistencia a ciertos antimicrobianos como penicilinas (ampicilina 74%),

fluoroquinolonas (ciprofloxacina 32.6%), y trimetoprim-sulfametoxazol 60.1%. Estos resultados son similares a los reportados en este trabajo, y concuerdan con otros autores, no solo de México, sino también de otros países. [13, 27, 30, 31, 32]

Cabe resaltar que el sistema de salud en México recomienda como antimicrobiano de primera elección al Trimetoprim-sulfametoxazol [5,11], aunque los estudios más recientes demuestren que no es de utilidad (84% de resistencia en el presente trabajo), ya que la resistencia a este antimicrobiano es alta en comparación con otros que se muestran más efectivos contra las bacterias causantes de ITU.

En cambio, otros estudios reportan valores de resistencia muy por debajo de los encontrados en este trabajo, tal es el caso del Sánchez *et al.* 2012 [33], quienes reportan resistencia para ciprofloxacina de 17.1% contra un 58% para nuestra población, trimetoprim/sulfametoxazol 24.4% contra 84%, estos resultados se observan también en Guneysel *et al.* 2016 [34] y Momtaz *et al.*, 2013 [35]. Estas variaciones pueden deberse a los periodos en los que obtuvo el aislado clínico y el país de origen de estos.

En el caso del meropenem algunos autores encontraron una resistencia menor a la encontrada en el presente trabajo, con un 0.85% y hasta

0% de resistencia [13, 30, 31]. Mientras que los antimicrobianos como amikacina, nitrofurantoina y fosfomicina muestran valores muy similares que van de 0% hasta 8%. [13, 32]

Se identificaron 16 patrones de resistencia dentro de las 64 cepas. En general podemos observar que, por cada familia de antimicrobianos, se observa un patrón, las penicilinas son altamente resistentes en segundo lugar las quinolonas, el trimetoprim/sulfametoxazol, y las cefalosporinas de 1ra y 2da generación. Mientras que las cefalosporinas de 3ra y 4ta generación presentan muy baja resistencia.

Al realizar la prueba para determinar el serogrupo, se identificó únicamente al 41% del total de cepas analizadas, esto se debe principalmente a que la PCR múltiple solo identifica a 14 de los serogrupos que presentaron mayor frecuencia al momento de estandarizar la PCR para cepas UPEC, encontrándose el serogrupo O25 como el más frecuente con un 53.8%, estos resultados concuerdan con algunos autores que identificaron a O25 como el serogrupo más frecuente en diferentes poblaciones alrededor del mundo. [13, 27, 30, 35]

Como complemento a este trabajo se realizará la identificación de serogrupo de la manera tradicional, y así identificar otros serogrupos,

no incluidos en la PCR, que puedan representar un patrón importante para el diagnóstico de ITU.

Al asociar los serogrupos con el patrón de resistencia a antimicrobianos podemos observar que el serogrupo O25, que es el de mayor frecuencia, tiene un patrón característico de multirresistencia el cual se repite en la mayoría de las cepas identificadas con este serogrupo. Lo cual nos indica que es posible asociar estos dos parámetros, es necesario un estudio con una población más representativa de la Ciudad de México, o de México en general para poder extrapolar los resultados.

IX. CONCLUSIONES

Los aislados analizados mostraron elevados porcentajes de multirresistencia, observándose que el Trimetoprim-sulfametoxazol, antimicrobiano de primera elección para el tratamiento de ITU, presentó una elevada resistencia.

El serogrupo O25 es el más frecuente en la población analizada.

Existe una relación entre el serogrupo y el patrón de resistencia. Se puede asociar al serogrupo O25, que es el de mayor frecuencia, con un patrón característico de multi-resistencia el cual se repite en la mayoría de las cepas identificadas con este serogrupo.

X. REFERENCIAS

1. Pigrau C. 2013. Infección del Tracto Urinario. 1ra Edición. Editorial Salvat. 23-39.
2. Flores Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ. 2015. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol.* 13:269-284
3. Salvatore S, Salvatore S, Cattoni E, Siesto G, Serati M, Sorice P, Torella M. 2011. Urinary tract infections in women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 156:131-6.
4. Schmiemann G, Kniehl E, Gebhardt K, Matejczyk MM, Hummers-Pradier E. 2011. The diagnosis of urinary tract infection: a systematic review. *Dtsch Arztebl Int.* 107(21):361-7.
5. Diagnóstico y Tratamiento de la Infección Aguda, no Complicada, del Tracto Urinario de la mujer. México: Secretaria de salud; 2009.
6. Norma Oficial Mexicana NOM-045-SSA2-2005, Para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de las infecciones nosocomiales.
7. Molina L. J., Manjarrez M., Tay Z. J. 2015. Microbiología: Bacteriología y Virología. 2da edición. Mendez Editores, México. pp: 213-224,892-899.

8. Hooton, T. M. 2012. Uncomplicated urinary tract infection. *New Engl. J. Med.* 366: 1028–1037.
9. Koneman E., *et al.* 2008. Koneman: Diagnóstico microbiológico. Texto y atlas a color. 6ta edición. Editorial Médica Panamericana, Argentina.
10. Strasinger S., Schaub M. 2010. Análisis de orina y de los líquidos corporales. 5ta edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos aires, Argentina. Pp72-74
11. Prevención, Diagnóstico y Tratamiento de la infección de vías urinarias, no complicada, en menores de 18 años en primer y segundo nivel de atención. México: Secretaria de salud: 2008.
12. Foxman B. 2014. Urinary tract infection syndromes: occurrence, recurrence, bacteriology, risk factors, and disease burden. *Infect Dis Clin North Am*; 28:1e13.
13. Molina-López J, Aparicio-Ozores G, Ribas-Aparicio RM, Gavilanes- Parra S, Chávez-Barrocal ME, Hernández-Castro R, *et al.* 2011. Drug resistance, serotypes, and phylogenetic groups among uropathogenic *Escherichia coli* including O25-ST131 in Mexico City. *J Infect Dev Ctries*; 5:840e9.
14. SINAVE/DGE/Salud 2014, Boletín Epidemiológico de la Secretaria de Salud, México.
15. Gupta K, Hooton TM, Naber KG, Wullt B, Colgan R, Miller LG, Moran GJ, Nicolle LE, Raz R, Schaeffer AJ, Soper DE. 2011.

International clinical practice guidelines for the treatment of acute uncomplicated cystitis and pyelonephritis in women: a 2010 update by the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. *Clin. Infect. Dis.* 52:103–120.

16. Ejrnaes K. 2011. Bacterial Characteristics of Importance for Recurrent Urinary Tract Infections Caused by *Escherichia coli*. *Dan Med Bull*; 58(4); B4187.
17. *Dormanesh B et al.* 2014. Virulence Factors and O-Serogroups Profiles of Uropathogenic *Escherichia coli* Isolated from Iranian Pediatric Patients. *Iran Red Crescent Med J.* 16(2): e14627.
18. Li D, Liu B, Chen M, Guo D, Guo X, Liu F, *et al.* 2010. A multiplex PCR method to detect 14 *Escherichia coli* serogroups associated with urinary tract infections. *J Microbiol Methods*; 82:71e7.
19. Stenutz R, Weintraub A, Widmalm G. 2006. The structures of *Escherichia coli* O-polysaccharide antigens. *FEMS Microbiol Rev* 30: 382–403
20. Waller D.G., Sampson A.P., Renwick A.G., Hillier K. 2014. *Medical Pharmacology and Therapeutics*. Elsevier London 4ta edición. pp 587-601.

21. Tafur J.D.; Torres J.A.; Villegas M.V. 2008. Mecanismos de Resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. *Asoc. Colomb. Infect* 12:3
22. Bruton L.L; Lazo J.S; Parker K.L; 2011. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. México. McGraw-Hill Interamericana. 12va edición.
23. Willey J.M., Sherwood L., Woolverton C.J. 2009. *Microbiología de Prescott, Harley y Klein*. España. Mc GrawHill 7ma edición. Pp835-853.
24. P.H.A. Bours *et al.* 2010. Increasing resistance in community-acquired urinary tract infections in Latin America, five years after the implementation of national therapeutic guidelines *International Journal of Infectious Diseases* 14: e770–e774.
25. Bauer A., Kirby W., Sherris J., Turck M., 1966. Antibiotic sensitivity testing by a standardized single disk method. *Ame J Clin Pat* 45: 493-496.
26. Wayne PA. 2013. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. In: CLSI, *Twenty-Third Informational Supplement M100-S23*. Wayne, Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
27. Paniagua-Contreras GL, *et al.* 2015. Virulence factors, antibiotic resistance phenotypes and O-serogroups of *Escherichia coli* strains isolated from community-acquired

urinary tract infection patients in Mexico. J. Microbiol. Immun Infect. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmii.2015.08.005>

28. Derakhshandeh, A. Firouzi R, Motamedifar M., Motamedi A., Bahadori M., Arabshahi S., Novinrooz A., Heidari S. 2014. Distribution of virulence genes and multiple drug-resistant patterns amongst different phylogenetic groups of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infection. Lett Appl Microbiol. 60: 148-154.
29. Arredondo-García JL, Amábile-Cuevas CF. 2008. High resistance prevalence towards ampicillin, co-trimoxazole and ciprofloxacin, among uropathogenic *Escherichia coli* isolates in Mexico City. J Infect Dev Ctries 2: 350-353.
30. Morales-Espinoza R, Hernandez-Castro R, Delgado G, Mendez JL, Navarro A, Manjarrez A, Cravioto A. 2016. UPEC strain Characterization isolated from Mexican patients with recurrent urinary infections. J Infect Dev Ctries, 10(4):317-328.
31. Akram M, Shahid M, Asad UK. 2007. Etiology and antibiotic resistance patterns of community-acquired urinary tract infections in J N M C Hospital Aligarh, India. Annals of Clinic Microbiol. Antimicrobial. 6: 4
32. Lee JH, Subhadra B, Son YJ, Kim DH, Park HS, Kim JM, Koo SH, Oh MH, Kim, HJ, Choi CH. 2015. Phylogenetic group distributions, virulence factors and antimicrobial resistance

- properties of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolates from patients with urinary tract infections in South Korea. Letter App Microbiol. 62: 84-90.
33. Sanchez G, Master R, Karlowsky J, Bordon J. 2012. *In Vitro* Antimicrobial Resistance of Urinary *Escherichia coli* Isolates among U.S. Outpatients from 2000 to 2010. Antimicrob Agents and Chemother p. 2181–2183
 34. Guneyssel O., Suman E., Cimilli T. 2016. Trimethoprim-Sulfamethoxazole resistance and fosfomycin susceptibility rates in uncomplicated urinary tract infections: time to change the antimicrobial preferences. Acta Clin Croat, 55:1.
 35. Momtaz H, Karimian A, Madan M, Dehkordi SF, Ranjbar R, Sarshar M, et al. 2013. Uropathogenic *Escherichia coli* in Iran: Serogroup distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties. Ann Clin Microbiol Antimicrobial; 12:8