



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Iztacala

ASOCIACIÓN DE LOS FENOTIPOS DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS CON LOS
FILOGRUPOS EN CEPAS DE *Escherichia coli* CÉRVICO-VAGINALES.

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

PRESENTA:

AGUILAR LAZCANO SANDRA ANGÉLICA

DIRECTORA DE TESIS

DRA. GLORIA LUZ PANIAGUA CONTRERAS

Proyecto financiado por la UNAM-DGAPA-PAPIIT IN216517

Los Reyes Iztacala. Edo. de México, 2017



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.

DEDICATORIA

A MÍA SOFÍA:

Para ti que completaste mi biología haciéndome una mujer fuerte y capaz de cumplir sus metas. Para ti que con tu sonrisa y tu mirada rompes mis paradigmas. Para ti que con tus abrazos unes todas mis partes rotas. Para ti que eres mi compañera de vida. Para ti que me has dado la dicha de llamarte hija. TE AMO INFINITAMENTE.

A VICTOR MANUEL AGUILAR VALDEMAR:

Por ser el hombre de mi vida, mi ejemplo de perseverancia y dedicación, eres el pilar de mí camino, gracias por no perder la fe en mí, sin tu apoyo y amor esto no sería posible. TE AMO Y ADMIRO MUCHO PAPÁ.

A MARÍA CANDELARIA LAZCANO CARMONA:

Por tu amor y confianza, por haberme criado, por tu paciencia y no dejar de crear en mí. Gracias por todo el apoyo que me has dado sin ti esto no sería posible. TE AMO MAMÁ.

A BRUNO Y KARLA AGUILAR:

Gracias por todo el apoyo, consejos y motivación que le dan a mi vida, por ser mis cómplices, porque aprendo más de ustedes que ustedes de mí. LOS AMO HERMANOS.

AGRADECIMIENTOS:

A la **Dra. Gloria Luz Paniagua Contreras** por su supervisión, interés, dedicación y motivación para la realización de este trabajo.

Al **Dr. Eric Monroy Pérez** por su dirección y sugerencias para la realización de esta tesis.

Al comité revisor de este trabajo:

Dr. Sergio Vaca Pacheco

Mtra. En Ciencias. Alina Uribe García

Biol. Susana González Almazán

Por sus sugerencias, interés y ayuda para la realización de este trabajo.

Para la realización de la presente tesis de investigación de conto con el apoyo económico de la **DGAPA**: Personal Académico en su Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) proyecto IN216517.

INDICE

Resumen	6
1. Introducción.....	7
1.1. Características generales de <i>E. coli</i> y patogenicidad.....	7
1.2. Factores de virulencia de CVPEC	9
1.3. Mecanismos de acción y de resistencia a los antibióticos	10
1.4. Filotipificación	13
2. Antecedentes	14
3. Justificación	15
4. Objetivos	16
4.1. Objetivo general.....	16
4.2. Objetivos particulares	16
5. Metodología.....	17
5.1. Obtención de la muestras	17
5.2. Determinación de la susceptibilidad a los antibióticos.....	17
5.3. Extracción del DNA bacteriano	18
5.4. Identificación de <i>E. coli</i> por PCR convencional.....	18
5.5. Identificación de los diferentes filogrupos de <i>E. coli</i> por PCR.....	18
5.6. Electroforesis en geles de agarosa	20
6. Resultados.....	21
6.1. Pacientes analizadas.....	21
6.2. Edad de las pacientes	22
6.3. Detección de <i>E. coli</i>	22
6.4. Asignación de grupos filogenéticos a <i>E. coli</i> por PCR cuádruplex.	23
6.5. Resistencia de <i>E. coli</i> a los antibióticos	26
6.5.1. Resistencia a los antibióticos en cepas del Filogrupo A	27
6.5.2. Resistencia a los antibióticos en cepas del Filogrupo B1	28
6.5.3. Resistencia a los antibióticos en cepas del Filogrupo B2	29
6.5.4. Resistencia a los antibióticos en cepas del Filogrupo C	29
6.5.5. Resistencia a los antibióticos en cepas del Filogrupo D.....	30
6.5.6. Resistencia a los antibióticos en cepas del Filogrupo F.....	31
6.5.7. Resistencia a los antibióticos en cepas del Filogrupo Clade I.....	31

7. Discusión	33
7.1 Pacientes estudiadas.....	33
7.2. Identificación de <i>E.coli</i> en las pacientes con infección cérvico-vaginal	33
7.3. Grupos filogenéticos en <i>E.coli</i> cérvico-vaginales	34
7.4. Resistencia a los antibióticos	34
7.5 Asociación de los fenotipos de resistencia a antibióticos en los diferentes Filogrupos en las cepas de <i>E. coli</i>	35
8. Conclusiones.....	37
9. Referencias.....	38

Resumen

Las cepas de *Escherichia coli* que causan infecciones intestinales o extraintestinales, (meningitis, infecciones urinarias y vaginales) han sido agrupadas en 8 filogrupos (A, B1, B2, C, D, E y F) y el críptico clade I. El objetivo de este estudio fue determinar la distribución de los diferentes grupos filogenéticos y su asociación con los fenotipos de resistencia a los antibióticos en un grupo de cepas vaginales de *E. coli*. Se analizaron 200 cepas de *E.coli* aisladas de pacientes con infecciones cérvico-vaginales de dos clínicas del IMSS. La identificación de *E. coli* se realizó por PCR mediante la amplificación del gen *16S rRNA*. La identificación de los diferentes filogrupos en las cepas de *E. coli* se realizó por PCR multiplex y la determinación de los fenotipos de resistencia a los antibióticos se realizó por el método de Kirby-Bauer. El filogrupo con mayor frecuencia fue B2 con el 46.5% (n= 93), seguido por los filogrupos A con 13% (n= 26), D con 11 % (n=22), C con 8 % (n=16), B1 con 5 % (n= 10), Clade I con 4% (n= 8) y F con 4% (n=8). En el 10.5% (n=21) de las cepas no se logró identificar el filogrupo. El 74% (n= 149) de las cepas de *E. coli* fue resistente a la ampicilina, 63% (n=127) a carbenicilina, 54% (n=109) a cefalotina, 51.% (n=103) a nitrofurantoína, 50% (n=100) a Trimetoprim/sulfametoxazol, 43.5% (n=87) a norfloxacin, 40.5% (n= 81) a ciprofloxacina, 30% (n=60) a gentamicina, 29% (n=59) a netilmicina, 28% (n=56) a cefuroxima, 21% (n= 43) a cloranfenicol, y 18% (n=37) a amikacina. Los resultados evidenciaron la elevada resistencia a los antibióticos en los diferentes grupos filogenéticos de *E. coli*, principalmente en los grupos B2, A y D, por lo que es importante actualizar los tratamientos médicos en el sector salud, con la finalidad de disminuir la propagación de cepas multirresistentes a los antibióticos.

1. Introducción

1.1. Características generales de *E. coli* y patogenicidad

E. coli es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo de la familia *Enterobacteriaceae*, tribu *Escherichia* (Rodríguez, 2002), móvil, con flagelos peritricos, su tamaño es de 3 μm de largo por 1 μm , no forma esporas (Murray, 2014), posee requerimientos nutricionales sencillos. Fermenta glucosa, reduce los nitratos, es catalasa-positivo, oxidasa-negativo (Murray, 2014) y no crece en el medio Citrato de Simmons, produciendo indol en la mayoría de las cepas (Sánchez, 2009). Se encuentra en el suelo, agua, la vegetación y forma parte de la microbiota intestinal normal de muchos animales, incluido el ser humano, sin embargo, existen algunas cepas que son patógenas para el ser humano (Murray, 2014).

E. coli puede crecer rápidamente en medios no selectivos; por ejemplo en agar sangre, y selectivos como agar MacConkey, que contiene sales biliares, violeta de genciana, y la lactosa como único hidrato de carbono (Murray, 2014). *E. coli* al fermentar la lactosa produce colonias rojas rodeadas por una zona de bilis precipitada (Koneman, 2008).

Las cepas de *E. coli* se pueden diferenciar serológicamente por sus antígenos somáticos, flagelares y capsulares. Además, pueden hallarse fimbrias y estructuras emparentadas que desempeñan un papel en la patogenicidad (Sánchez, 2009).

Con base en su mecanismo de patogenicidad y el cuadro clínico que causan las cepas de *E. coli* se dividen en cepas patógenas intestinales y cepas patógenas extraintestinales (ExPEC). Las cepas intestinales se agrupan en seis patotipos: Enterotoxigénica (ETEC), Enterohemorrágica también conocidas como productoras de toxina Vero o toxina semejante a Shiga (EHEC o VTEC o STEC), Enteroinvasiva (EIEC), Enteropatógena (EPEC), Enteroagregativa (EAEC) y adherencia difusa (DAEC) (Rodríguez, 2002). Los cuadros clínicos que producen estos patotipos se describen en la Tabla 1.

La microbiota vaginal se compone normalmente de 5 a 15 especies de bacterias aerobias y anaerobias, algunas de las cuales tienen la capacidad de provocar vaginosis e inflamación pélvica. *E. coli* es uno de los microorganismos que causa infecciones

vaginales en las mujeres, su colonización está asociada a diversas complicaciones genitourinarias, obstétricas y neonatales.

También se ha reportado que *E. coli* se trasmite sexualmente, afectando de igual forma al sexo masculino (Obata-Yasuoka, 2002).

Las cepas ExPEC han adquirido genes que codifican diversas proteínas extraintestinales que les permiten causar infecciones fuera del tracto gastrointestinal, tanto en condiciones normales como comprometidas. *E. coli* es la enterobacteria que con más frecuencia causa sepsis bacteriana, meningitis neonatal, infección del tracto urinario, gastroenteritis, e infecciones cérvico-vaginales (Wiles, 2008)

En la última década se ha demostrado que *E. coli* patógena cérvico-vaginal (CVPEC) es la principal causa de infección genital, la cual afecta a más del 60 % de las mujeres durante su periodo de vida. La gravedad de las infecciones cérvico-vaginales producidas por *E. coli* se complica por la existencia de los múltiples factores de virulencia que poseen (Rashki, 2014).

Las infecciones cérvico-vaginales son una de las principales causas de consulta en las clínicas de primer nivel de atención médica, principalmente en mujeres en edad reproductiva (González-Pedraza, *et al*; 2007).

Tabla1. Características de los grupos de *E. coli* causantes de gastroenteritis

Grupo	Síntomas clínicos	Epidemiología
ETEC	Diarrea aguda acuosa	Niños menores de dos años y diarrea del viajero
EHEC	Diarrea sin sangre, dolor abdominal, fiebre, vómito	Niños y adultos que la adquieren por comer carne cruda o mal cocida
EIEC	Diarrea con moco y sangre, o diarrea acuosa, también se presenta cuadro disentérico	Niños menores de seis meses
EPEC	Diarrea aguda, dolor abdominal, vómito, fiebre baja	Niños menores de seis meses hasta dos años
EAEC	Diarrea líquida, verde con moco sin sangre, diarrea persistente hasta 20 días	Recién nacidos y niños menores de dos años
DAEC	Diarrea acuosa sin sangre	Niños de 1 a 5 años

1.2. Factores de virulencia de CVPEC

Las cepas de *E. coli* patógenas cérvico-vaginales poseen diversos factores de virulencia (VFs) (Tabla 2) que incluyen diversas adhesinas, toxinas, protectinas, y genes relacionados con el hierro (Zhao, 2009). Las adhesinas permiten la colonización, las toxinas provocan inflamación y lesión en los tejidos del hospedero (Johnson, 2000), mientras que las protectinas le permiten evadir la respuesta inmune del hospedero. Los genes involucrados en la adquisición de hierro favorecen la sobrevivencia y la multiplicación (Russo, 2003).

Tabla 2. Factores de Virulencia de *E. coli* cérvico vaginales

Factor de virulencia	
Adhesinas	<i>afa</i>
	<i>bmaE</i>
	<i>fimH</i>
	<i>focG</i>
	<i>iha</i>
	<i>papA</i>
	<i>papC</i>
	<i>papEF,</i>
	<i>papG</i>
	<i>papG allele I</i>
	<i>papG allele II</i>
	<i>papG allele III</i>
	<i>sfa</i>
	<i>sfaS</i>
Toxinas	<i>cdtB</i>
	<i>cnf-1</i>
	<i>hlyD</i>
Protectinas	<i>iss,</i>
	<i>kpsMT (K1)</i>
	<i>kpsMT II</i>
	<i>kpsMT III</i>
	<i>Rfc</i>
	<i>traT</i>
Genes relacionados con el hierro	<i>feoB</i>
	<i>fyuA</i>
	<i>ireA</i>
	<i>iroN</i>
	<i>irp-2</i>
	<i>iucC</i>
	<i>iutA,</i>
<i>Sita</i>	

1.3. Mecanismos de acción y de resistencia a los antibióticos

En los últimos años el tratamiento de las infecciones cérvico-vaginales causadas por *E. coli* se ha complicado debido a que las bacterias se han seleccionado como resistentes a los antimicrobianos (Padilla, 2007), principalmente a β -lactámicos, estreptomicina, gentamicina, sulfonamida, cloranfenicol (Van, 2008), tetraciclina (Randall *et. al.*, 2004), trimetoprim (Toro *et.al.*, 2005) y quinolonas (Mammeri *et. al.*, 2005). La resistencia a los antibióticos se encuentra codificada por genes (Tabla 3) que frecuentemente se localizan en elementos genéticos móviles como plásmidos, transposones e integrones (Hall, 2004). Peleg *et al.*, (2010) describieron siete mecanismos de resistencia a antibióticos mediados por plásmidos en bacterias Gram negativas; 1) Disminución de las porinas, lo que reduce el movimiento de los antibióticos a través de la membrana bacteriana; 2) Producción de β -lactamasas, que hidrolizan a los antibióticos β -lactámicos, como la penicilina; 3) Incremento de la expresión de las bombas de flujo transmembranales que conduce a la expulsión del antimicrobiano antes de que ejerza su efecto; 4) Presencia de enzimas que modifican al antibiótico, impidiendo que la droga actúe sobre el sitio blanco; 5) Modificaciones en el ribosoma, por lo que el antibiótico no puede unirse al sitio blanco y de esta manera no puede inhibir la síntesis de proteínas; 6) Mecanismo bypass metabólico, que utiliza una enzima alternativa insensible al antibiótico; 7) Mutación en el lipopolisacárido, que impide a los antibióticos de la clase de las polimixinas unirse al blanco.

A continuación se describen los mecanismos de acción de los antibióticos:

1) β -lactámicos. El grupo de los β -lactámicos incluye una gran variedad de antibióticos; que tienen en común un anillo β -lactámico (Tafur *et al.*, 2008). Los β -lactámicos se unen a la Proteínas Fijadoras de Penicilinas (PBP), la unión conduce a la liberación de autolisinas que rompen a la pared preformada, por lo que la pared celular pierde su integridad y la bacteria muere. La resistencia a los β -lactámicos se debe a que *E. coli* es portadora de genes que codifican para β -lactamasas, como *TEM-1*, *TEM-2* y *SHV-1*, con alta afinidad para amoxicilina y cefalosporinas (Fica, 2014).

2) Polimixinas. El antibiótico interactúa con la membrana externa a través de sus segmentos hidrofóbicos. Después ocurre un deterioro del ensamblaje de los ácidos grasos de la molécula del lípido A, provocando una expansión estructural de la membrana

externa, que genera cambios en su estructura fosfolipídica, lo que conduce a la pérdida de la presión osmótica bacteriana. (Aguayo *et al.*, 2016).

3) Aminoglucósidos. Los aminoglucósidos interactúan inicialmente con la superficie externa de la membrana celular bacteriana, después ocurre el transporte a través de la membrana interna y, finalmente, la unión a la subunidad 30S de los ribosomas, en donde inhiben la síntesis de proteínas. Los mecanismos bacterianos de resistencia a los aminoglucósidos son de tres tipos: modificación enzimática del antibiótico, alteración de la difusión y la mutación ribosómica que origina menor afinidad por la subunidad 30S. (Palomino, 2003).

4) Tetraciclinas. Las tetraciclinas ingresan a la bacteria a través de los canales hidrófilos (porinas) por difusión pasiva. Una vez en el citoplasma bacteriano, las tetraciclinas se unen a los receptores de la subunidad 30S del ribosoma y de esta manera bloquean la fijación del aminoacil-tRNA al sitio aceptor en el complejo mRNA-ribosoma, evitando la incorporación de nuevos aminoácidos a la cadena peptídica en crecimiento, inhibiendo de esta manera la síntesis de proteínas (Mendoza *et. al.*, 2007).

5) Cloranfenicol. Este antibiótico inhibe la síntesis de proteínas bacterianas. La resistencia ante el cloranfenicol es mediada generalmente por un mecanismo enzimático (acetilación). Se han descrito variantes de la acetilasa y los genes respectivos pueden encontrarse en el cromosoma o en plásmidos (Fica, 2014).

6) Macrólidos. Los macrólidos inhiben la síntesis de proteínas de las bacterias. El mecanismo de resistencia a los macrólidos puede ser debido a alteraciones del sitio blanco, a mutaciones puntuales a nivel cromosómico de la proteína L15 y a inducción de una enzima que metila el sitio blanco de la subunidad mayor 23S del rARN, que frecuentemente se encuentra codificada en plásmidos y transposones.

7) Quinolonas. Las quinolonas interfieren con la replicación del DNA, conduciendo a la muerte de la bacteria mediante la fragmentación cromosómica. Los antibióticos penetran la pared celular a través de porinas, inhibiendo directamente la replicación bacteriana al interactuar con dos enzimas; DNA girasa y topoisomerasa IV; las cuales son necesarias para realizar el superenrollamiento del DNA (Álvarez-Hernandez *et al.*, 2015).

El mecanismo de resistencia a las quinolonas ocurre por mutaciones en las subunidades de la DNA girasa. Recientemente se han descrito 3 mecanismos de resistencia codificada

en plásmidos: 1) Proteínas de resistencia a quinolonas (Qnr) que protegen a la DNA girasa; 2) La enzima modificante de aminoglucósidos Aac(6')-Ib-cr que confiere también resistencia cruzada a quinolonas (bifuncional) y 3) Un sistema de eflujo (QepA efflux) (Fica, 2014)

8) Rifampicina. Inhibe la transcripción de la RNA polimerasa. El mecanismo de resistencia bacteriana ocurre por mutaciones puntuales o deleciones en el gen *rpoB*, que codifica para la subunidad β de la RNA polimerasa.

9) Sulfonamidas y Trimetoprim. Estos antibióticos inhiben la síntesis del ácido fólico. Los mecanismos de resistencia a sulfonamidas y trimetoprim son codificados por genes localizados en el cromosoma o en plásmidos. La resistencia a trimetoprim ocurre por mutaciones en el gen *dfr*, que determinan una mayor expresión de la enzima dihidrofolato reductasa o enzimas con menor afinidad por el antibiótico; mientras que la resistencia a sulfonamidas se deben a mutaciones en el gen *folP* (dihidropteroato sintasa) (Vignoli *et. al.*, 2008). La resistencia a sulfonamidas ocurre ya sea por a) un aumento de la síntesis del ácido para-aminobenzoico; b) mutaciones en la dihidropteroato sintetasa o; c) la existencia de enzimas alternativas codificadas en plásmidos que hacen inefectiva la acción de las sulfonamidas. La resistencia a las sulfonamidas es de tipo cruzada. Así la incorporación de genes *sul* confiere resistencia a sulfas, y los genes *dfr* confieren resistencia a trimetoprim (Vignoli *et. al.*; 2008)

Tabla 3. Genes que codifican resistencia a antibióticos en *E. coli*

Antibiótico	Gen que codifica resistencia
Estreptomina	<i>aadA1</i>
Gentamicina	<i>aac(3)-IV</i>
Sulfonamida	<i>sul1</i>
β -lactámase	<i>blasSHV</i>
β -lactámase	<i>CITM</i>
Cloranfenicol	<i>cat1</i>
Cloranfenicol	<i>cmIA</i>
Tetraciclina	<i>tet(A)</i>
Tetraciclina	<i>tet(B)</i>
Trimetoprim	<i>dfrA1</i>
Quinolonas	<i>qnr</i>

1.4. Filotipificación

Las cepas de *E. coli* han sido agrupadas mediante análisis filogenéticos en ocho principales filogrupos, siete pertenecen a *E. coli sensu stricto* (A, B1, B2, C, D, E y F) y uno pertenece al críptico clade I (Clermont, 2000). Las cepas patógenas de *E. coli* extraintestinal y *E. coli* comensal difieren con respecto a su grupo filogenético y a sus factores de virulencia. Las cepas patógenas pueden derivar principalmente de un grupo filogenético B2, las cepas comensales, por el contrario, son característicamente pertenecientes a grupos filogenéticos A. La identificación de los filogrupos de *E. coli* se realiza por PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), identificando principalmente los genes *chua*, *yjaA* y un fragmento de DNA *TspE4.C2* (Clermont *et al.*, 2000). También se ha documentado la existencia de un grupo de cepas emparentadas con el filogrupo B2, denominadas filogrupo F y recientemente se ha propuesto un filogrupo C, que consta de cepas estrechamente relacionadas pero distintas del filogrupo B1 (Clermont *et al.*, 2000).

2. Antecedentes

Picard *et al.*, (1998) relacionaron los grupos filogenéticos con los distintos factores de virulencia en cepas de *E. coli* (n=82) obtenidas de heces e infecciones extraintestinales de ratones. Los resultados mostraron que los grupos filogenéticos A y B1 fueron menos virulentos en comparación con las cepas del grupo filogenético B2.

Clermont *et al.*, (2000) describieron un método rápido de PCR para la identificación de los grupos filogenéticos en 230 cepas de *E. coli* mediante la detección de los genes *chua*, *yjaA* y el fragmento de DNA *TspE4.C2*.

Johnson y Stell, (2000) desarrollaron y validaron un ensayo de PCR multiplex para determinar la prevalencia y distribución filogenética de *E. coli*. Estos autores también demostraron la asociación de los factores de virulencia con los filogrupos en las cepas de *E. coli* aisladas de pacientes con sepsis urinaria.

Rashki (2014) describió la asociación de los marcadores de virulencia de CVPEC con los grupos filogenéticos y con los genes que codifican resistencia a los antimicrobianos.

3. Justificación

Debido a que en nuestro país existe poca información sobre la frecuencia de los grupos filogenéticos de CVPEC, aunado al incremento de la resistencia bacteriana a los antimicrobianos, el presente estudio contribuirá a establecer los diferentes filogrupos y su asociación con los fenotipos de resistencia a los antibióticos en un grupo de cepas de *E. coli* aisladas de mujeres jóvenes con infecciones cérvico-vaginales.

4. Objetivos

4.1. Objetivo general

-Establecer la distribución en los diferentes grupos filogenéticos de un grupo de cepas de *E. coli* de origen vaginal.

4.2 Objetivos particulares

-Determinar la frecuencia de *E. coli* en las infecciones cérvico-vaginales

-Determinar la resistencia a los antibióticos por el método de Kirby-Bauer en las cepas de CVPEC.

-Correlacionar la resistencia a los antibióticos con los diferentes filogrupos en las cepas de CVPEC.

5. Metodología

5.1. Obtención de la muestras

Para el desarrollo del presente trabajo se analizaron 210 cepas de *Escherichia coli* aisladas de mujeres con signos y síntomas de infecciones cérvico-vaginales, caracterizadas por dolor, ardor, secreción, inflamación, mal olor, etc., durante su asistencia al servicio de ginecología de dos clínicas del IMSS (Clínica No. 62 de la Unidad Cuautitlán, y la clínica No. 64, Unidad Tequesquahuac) y del servicio de ginecología de la Clínica Universitaria de la Salud Integral (CUSI) de la FES Iztacala. Por medio de hisópos estériles y con ayuda de un espejo vaginal se les tomó la muestra de la cavidad vaginal. Las muestras se depositaron en el medio de cultivo líquido BHI (infusión-cerebro-corazón), y se incubaron a 37° C por 24 h. Al término se sembraron en EMB (eosina azul de metileno) y se incubaron a 37° C por 24 h. A partir del crecimiento bacteriano, una colonia con morfología típica de *Escherichia coli* fue seleccionada para la identificación por las pruebas bacteriológicas estándar como: Kligler, sacarosa, manitol, indol, citrato y urea.

5.2. Determinación de la susceptibilidad a los antibióticos

Para probar la susceptibilidad y/o resistencia a los antibióticos a cada una de las cepas de *E. coli* se utilizó la técnica de Kirby-Bauer (Bauer *et al.*, 1966). Para lo cual se tomaron por medio de un hisopo estéril 5 colonias de cada cepa crecida en EMB y se inocularon sobre la totalidad de la superficie del agar de Mueller-Hinton. Por último se tomó un sensidisco con los doce antimicrobianos a determinar (BIO-RAD) con una pinza estéril y se colocó sobre el tapiz bacteriano. Así el antimicrobiano se difundió formando un gradiente de concentración, que inhibió o permitió el crecimiento de la bacteria en un tiempo de 24 horas a 37°C. De esta manera las cepas se clasificaron como susceptibles (S) o resistentes (R) dependiendo del diámetro del halo de inhibición (el cual se midió con un vernier), conforme a las recomendaciones del fabricante respecto a los puntos de corte.

5.3. Extracción del DNA bacteriano

Las cepas fueron sembradas en el Medio Mueller Hinton e incubadas a 37° por 24 horas, posteriormente se realizó la extracción del DNA por el método de ebullición conforme a lo descrito por Paniagua *et al.*, (2015), para lo cual y por medio de un asa estéril se tomaron varias colonias bacterianas, después se depositaron en tubos de rosca de 16x150 con 2 ml de agua desionizada estéril, las muestras se agitaron en un vortex durante 20 segundos, posteriormente se colocaron en baño maría durante 20 minutos. Al término, las muestras se colocaron en hielo por 10 minutos, se centrifugaron a 14,000 rpm por 12 minutos, el sobrenadante con el DNA bacteriano se almacenó en tubos Eppendorf a 20°C, para su posterior utilización.

5.4. Identificación de *E. coli* por PCR convencional

La identificación de *E. coli* se realizó por PCR mediante la amplificación del gen 16S rRNA conforme a lo descrito por Jill (2004). Para lo cual se utilizó el equipo comercial Kapa Taq Ready Mix™ (Kapa Biosystems™) (1.5 mmol de MgCl₂, 0.5 U de AmpliTaq polimerase y 100 mmol de dNTPs). Los oligonucleótidos utilizados fueron: wl-3110 (AGAGTTTGATCMTGGCTCAG) y wl-3111 (CCGTCAATTCATTTGAGTT). Para un volumen final de 20 µL por cada mezcla de reacción se utilizaron 1 µL de cada oligonucleótido, 10 µL de Kapa Taq, 5 µl de agua libre de nucleasa y 3 µL de DNA bacteriano. Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: desnaturalización inicial 95°C por 5 minutos, 30 ciclos (desnaturalización a 95°C, por 30 segundos, alineación a 55°C por 1 minuto y extensión a 72°C por 1 minuto). Finalmente la extensión se prolongó por 5 minutos a 72°C. El tamaño del amplicón fue de 919 pares de bases.

5.5. Identificación de los diferentes filogrupos de *E. coli* por PCR.

La identificación de los filogrupos de *E. coli* se realizó con base en lo establecido por Clermont *et al.*, (2000). Para lo cual se utilizó un PCR multiplex que se basó en la presencia o ausencia de los siguientes cuatro genes en cada cepa, *arpA*, *chuA*, *yjaA* y *TspE4.C2*; dependiendo de los genotipos detectados se determinó el filogrupo. Sin embargo, varias de las cepas mostraron más de una combinación de genes que daban como resultado la probabilidad de pertenecer a los Filogrupos A o C; D o E; por lo que se realizó un análisis adicional para las cepas que aparentemente pertenecían a más de un filogrupo, con la finalidad de determinar el filogrupo correspondiente (Tabla 4).

El volumen final para las mezclas de reacción de la PCR multiplex fue de 21 μ L; 1 μ L de cada uno de los ocho oligonucleótidos correspondientes a los genes *chuA*, *yjaA*, *TspE4.C2* y *arpA* (Tabla 5), 10 μ L de Kapa Taq, y 3 μ L de DNA bacteriano. Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: desnaturalización inicial de 4 minutos a 94°C, 30 ciclos (desnaturalización a 94°C por 5 segundos, alineación a 57°C para el grupo E o 59°C para el cuádruplex y grupo C) y la extensión final a 72 °C por 5 minutos.

Tabla 4. Oligonucleótidos utilizados para la determinación de los grupos filogenéticos de *E. coli*.

PCR	Gen	Oligonucleótido	Secuencia de los primers (5'-3')	Tamaño del amplicón (pb)
Cuádruplex	<i>chuA</i>	chuA.1b	5'-ATGGTACCGGACGAACCAAC-3'	288
		chuA.2	5'-TGCCGCCAGTACCAAAGACA-3'	
	<i>yjaA</i>	yjaA.1b	5'-CAAACGTGAAGTGTGTCAGGAG-3'	211
		yjaA.2b	5'-AATGCGTTCCTCAACCTGTG-3'	
<i>TspE4.C2</i>	TspE4C2.1b	5'-CACTATTCGTAAGGTCATCC-3'	152	
	TspE4C2.2b	5'-AGTTTATCGTAAGGTCATCC-3'		
	<i>arpA</i>	AceK.f	5'-AACGCTATTCGCCAGCTTGC-3'	400
		ArpA1.r	5'-TCTCCCATACCGTACGCTA-3'	
Grupo E	<i>arpA</i>	ArpAgpE.f ArpAgpE.r	5'-GATTCCATCTTGTCAAAATATGCC-3' 5'-GAAAAGAAAAAGAATTCCCAAGAG-3'	301
Grupo C	<i>trpA</i>	trpAgpC.1 TrpAgpC.2	5'-AGTTTTATGCCAGTGCGAG-3' 5'-TCTGCGCCGGTACGCCC-3'	219
Control Interno	<i>trpA</i>	trpBA.f trpBA.r	5'-CGGCGATAAAGACATCTTAC-3' 5'-GCAACGCGCCTGGCGGAAG-3'	489

Tabla 5. Genes que determinan los grupos filogenéticos para *E. coli*.

<i>arpA</i> (400 pb)	<i>chuA</i> (288 pb)	<i>yjaA</i> (211 pb)	<i>TspE4.C2</i> (152 pb)	Filogrupo	Paso siguiente
+	-	-	-	A	
+	-	-	+	B1	
-	+	-	-	F	
-	+	+	-	B2	
-	+	+	+	B2	
-	+	-	+	B2	Puede ser confirmando con el gen <i>ibeA</i> .
+	-	+	-	A o C	Usar primers específicos. Si obtiene C+, es C, sino A.
+	+	-	-	D o E	Usar primers específicos. Si obtiene E+, es E, sino D.
+	+	-	+	D o E	Usar primers específicos. Si obtiene E+, es E, sino D.
+	+	+	-	E o clado I	Usar primers específicos. Si obtiene E-, es clado I.
-	-	+	-	Clado I o II	Confirmar usando primers específicos.
-	(476°)	-	-	Clado III, IV o V	MLST
-	-	-	+	Desconocido	MLST
-	-	+	+	Desconocido	MLST
+	-	+	+	Desconocido	MLST
+	+	+	+	Desconocido	MLST
-	-	-	-	Desconocido	Confirmar la identificación de <i>E. coli</i> con el gen <i>uidA</i> o <i>gadA/B</i> , si es positivo usar primer específico para clados crípticos y/o MLST.

5.6. Electroforesis en geles de agarosa

Después de la amplificación por PCR, los amplicones fueron analizados por electroforesis en geles de agarosa al 2% utilizando el Midori Green (0.0.3; NiponGenetics, EuropeGmph) y Tris-Borato EDTA 1x (TBE) como buffer para conducir la corriente eléctrica. La electroforesis se realizó bajo las siguientes condiciones: 120 volts, 94 miliampers durante 60 minutos. Los geles de agarosa fueron fotografiados bajo luz UV (312 nm) utilizando el transiluminador de fotodocumentación GEL LOGIC 100™ KODAK® (Paniagua *et al.*, 2007).

6. Resultados

6.1. Pacientes analizadas

En el presente estudio se analizaron las muestras de 210 mujeres con infecciones cérvico-vaginales que acudieron a las clínicas del IMSS, No. 62 y No. 64, y del servicio de ginecología de la Clínica Universitaria de la Salud Integral (CUSI) de la FES Iztacala.

E. coli fue identificada en el 95 % (n=200) de las muestras vaginales mediante amplificación por PCR del gen *16S rRNA*. En el 5 % (n=10) de las muestras no se logró identificar a *E. coli* (Figura 1).

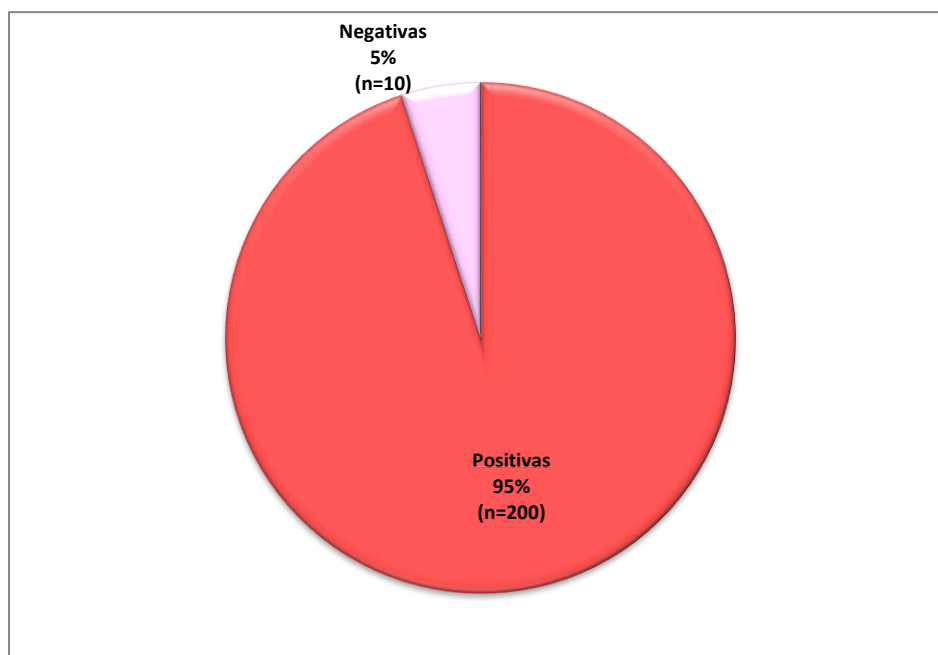


Figura 1. Identificación de *Escherichia coli*

6.2. Edad de las pacientes

El rango de edad más frecuente entre las pacientes analizadas fue el de 31 a 50 años con el 41 % (n= 86), seguido por 51 a 70 años con el 28.6 % (n= 60), 18-30 años con el 20 % (n=42) y 71-90 años con el 3.8 % (n=8). En el 6.6 % (n=14) de las mujeres no se determinó la edad (**Figura 2**).

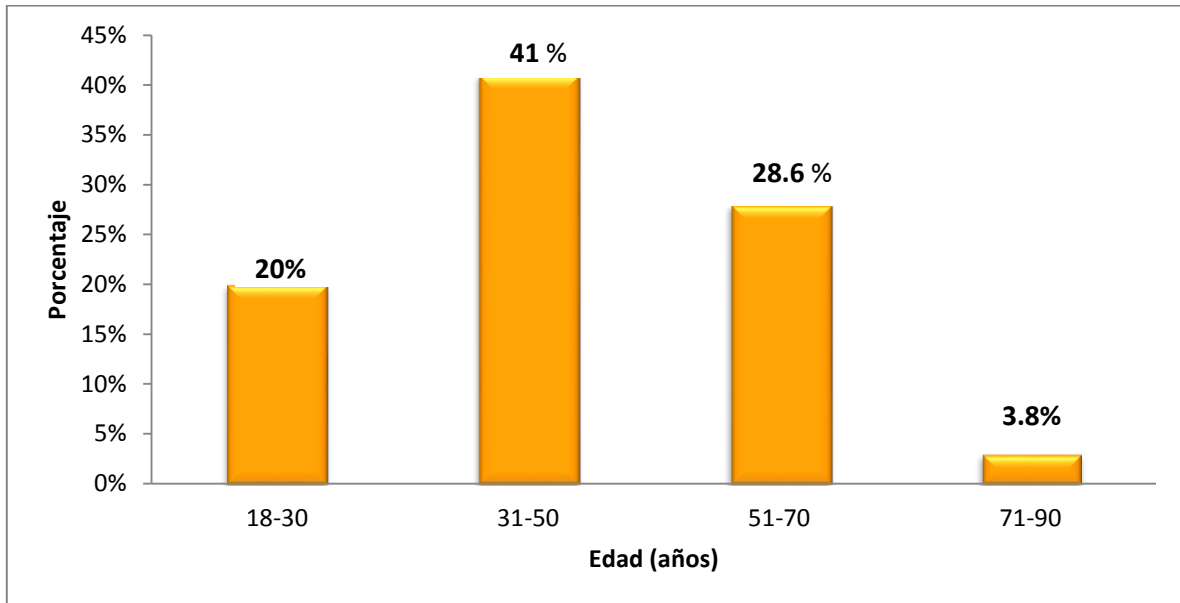
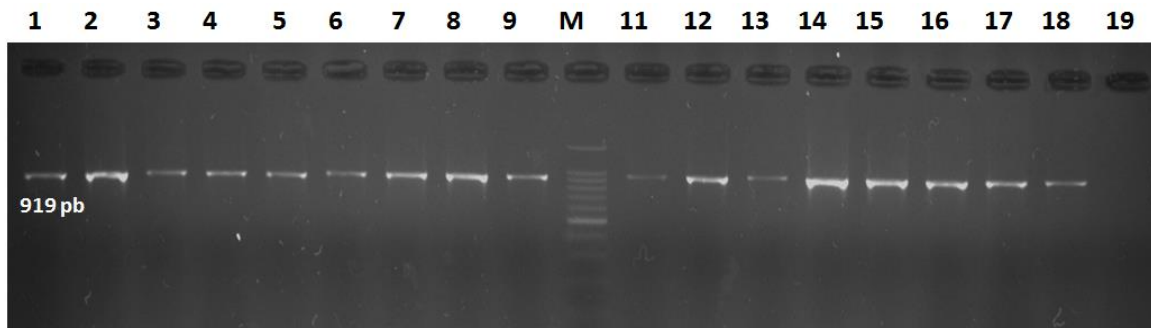


Figura 2. Rango de edad de las pacientes analizadas

6.3. Detección de *E. coli*

E. coli fue identificada en el 95% (n=200) de las muestras vaginales mediante amplificación por PCR del gen *16SrRNA* (**Fotografía 1**).



Fotografía 1. Identificación de las cepas de *E. coli* por PCR mediante la detección del gen *16S rRNA* (919 pb). Carriles 1-9 y 11-17, cepas *E. coli* vaginales. (M) MWM 100 pb. Carril 18, control positivo (cepa de *E. coli* ATCC 11775 del Lab. CUSI). Carril 19, control negativo (sin DNA molde).

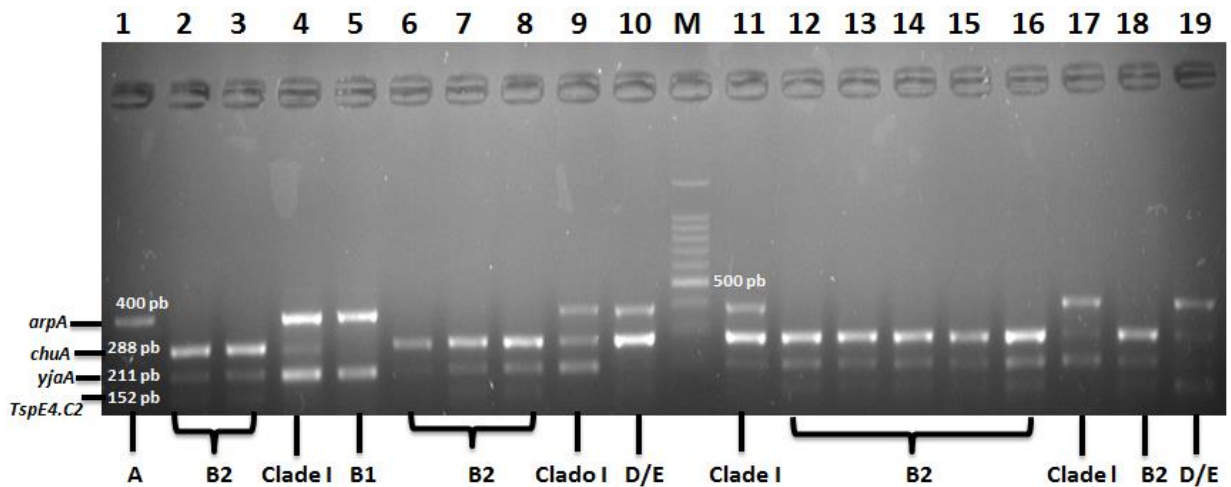
6.4 Asignación de grupos filogenéticos a *E. coli* por PCR cuádruplex.

A partir de los 8 filogrupos estudiados en las cepas de *E. coli*, el filogrupo con mayor frecuencia fue B2 con el 46.5 % (n= 93), seguido por los filogrupos A con 13% (n= 26), D con 11 % (n=22), C con 8 % (n=16), B1 con 5 % (n= 10), Clade I con 4 % (n= 8) y F con 2% (n=4). En el 10.5 % (n= 21) de las cepas no se logró asignar algún grupo filogenético. (**Tabla 7, Fotografías 2, 3, 4 y 5**). La asignación de los diferentes filogrupos se estableció de acuerdo a lo reportado por Clermont *et al*; 2000 (**Tabla 6**).

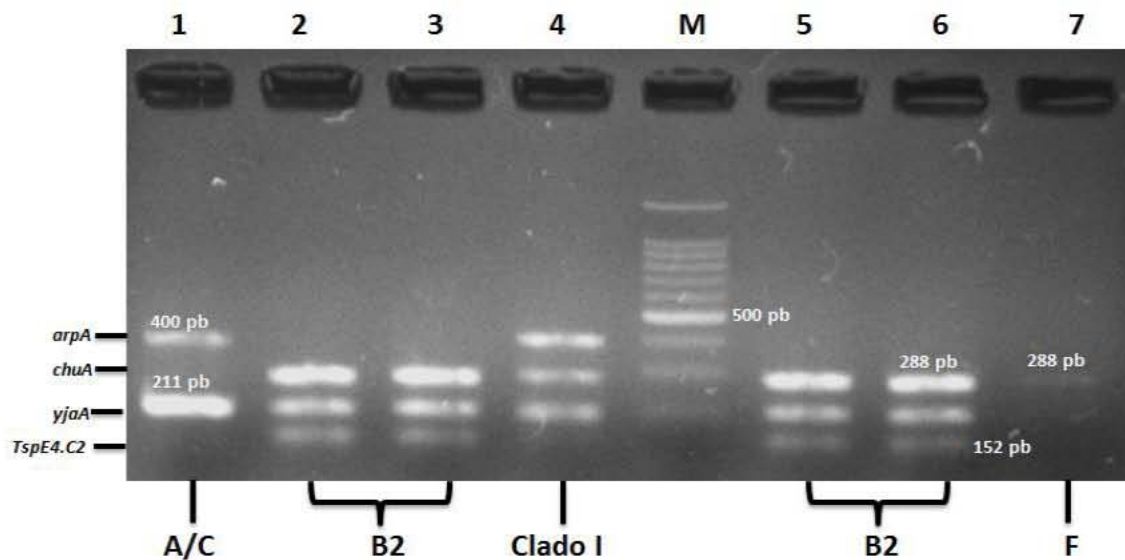
En el caso de las cepas que se realizó un análisis adicional para poder determinar si pertenecían a los filogrupos A o C; D o E; en la **Fotografía 4** se puede observar la amplificación de los genes *trpAgpC* que determinan al filogrupo C; en el caso de la **Fotografía 5**, se puede observar la amplificación de los genes *trpA*, lo que determina al filogrupo D.

Tabla 6. Filogrupos de *E. coli* cérvico vaginales por PCR cuádruplex (N=200).

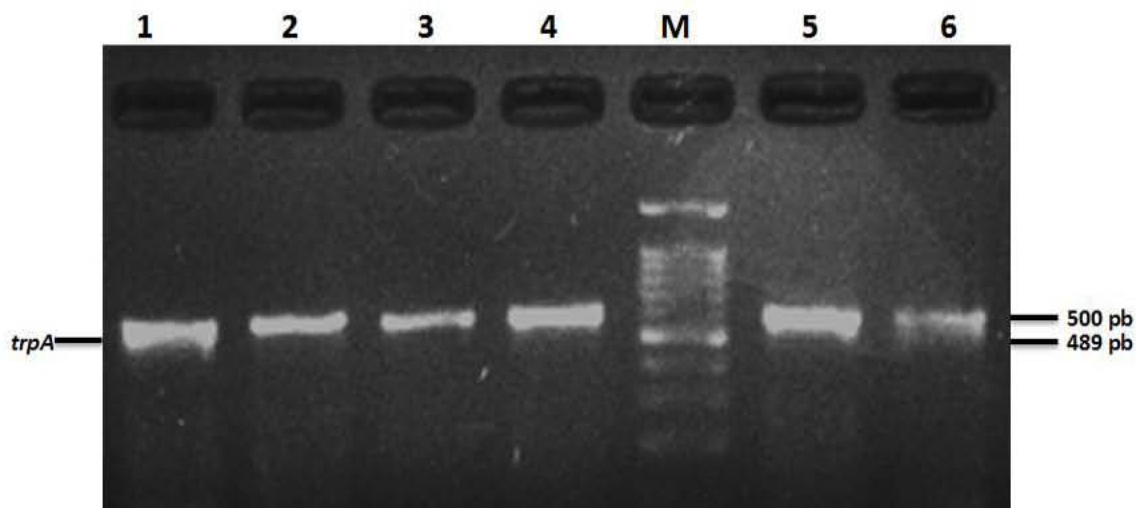
Filogrupo	Total de cepas	%
A	26	13
B1	10	5
B2	93	46.5
C	16	8
D	22	11
F	8	4
Clade I	4	2
Desconocido	21	10.5



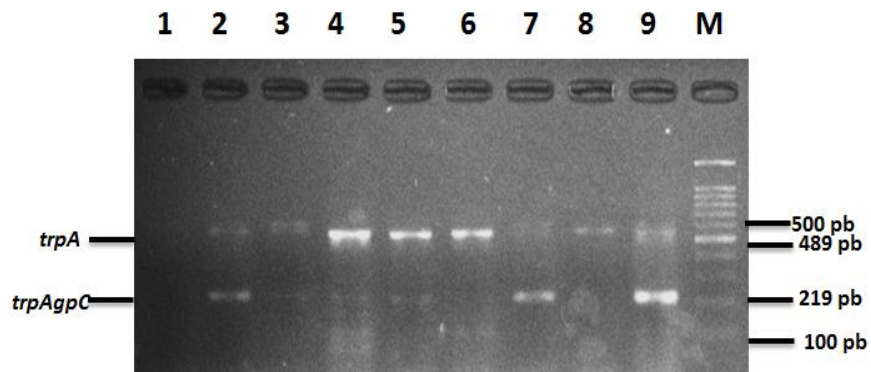
Fotografía 2. Identificación de los grupos filogenéticos en las cepas de *E. coli*. Carril 1, filogrupo A (400 pb). Carriles 4, 9, 11 y 17, filogrupo Clade I (400, 288 y 211 pb). Carriles 2, 3, 6-8, 12-16 y 18, filogrupo B2 (288, 211 y 152 pb). Carriles 10 y 19, filogrupo D o E (400, 288 y 152 pb). Carril 5, filogrupo B1 (400 y 211 pb). (M) MWM 100 pb.



Fotografía 3. Identificación de los grupos filogenéticos en las cepas de *E. coli*. Carril 1, filogrupo A o C (400 y 211 pb). Carriles 2, 3, 5 y 6, filogrupo B2 (288, 211 y 152 pb). Carril 4, filogrupo Clade I (400, 288 y 211 pb). Carril 7, filogrupo F (288 pb). (M) MWM 100 pb.



Fotografía 4. Análisis filogenético adicional para las cepas D o E. Carriles 1-6, grupo D (se determinó que las cepas pertenecían al filogrupo D debido a la longitud del gen *trpA* de 489 pb). (M), MWM 100 pb.



Fotografía 5. Análisis filogenético adicional para determinar a los filogrupos A o C. Carriles 2-5, 7 Y 9 filogrupo C (se determinó que las cepas pertenecían al filogrupo C por la longitud de los genes *trpAgpC* y *trpA* con 219 pb y 489 pb respectivamente). Carriles 6 Y 8 filogrupo A (se determinó que las cepas pertenecían al filogrupo A debido a que la longitud de el gen *trpA* de 489 pb). (M), MWM 100 pb.

6.5. Resistencia de *E. coli* a los antibióticos

La mayoría de las cepas de *E. coli* de origen vaginal fue resistente a los antibióticos β -lactámicos; ampicilina (AM) con el 74% (n= 149), y carbenicilina (CB) con el 63% (n= 127), seguido de cefalotina (CF) con el 54% (n= 109), trimetoprim con sulfametoxazol (SXT) con el 50% (n=100), y la quinolona norfloxacin (NOF) con el 43 % (n=87) (**Figura 3**).

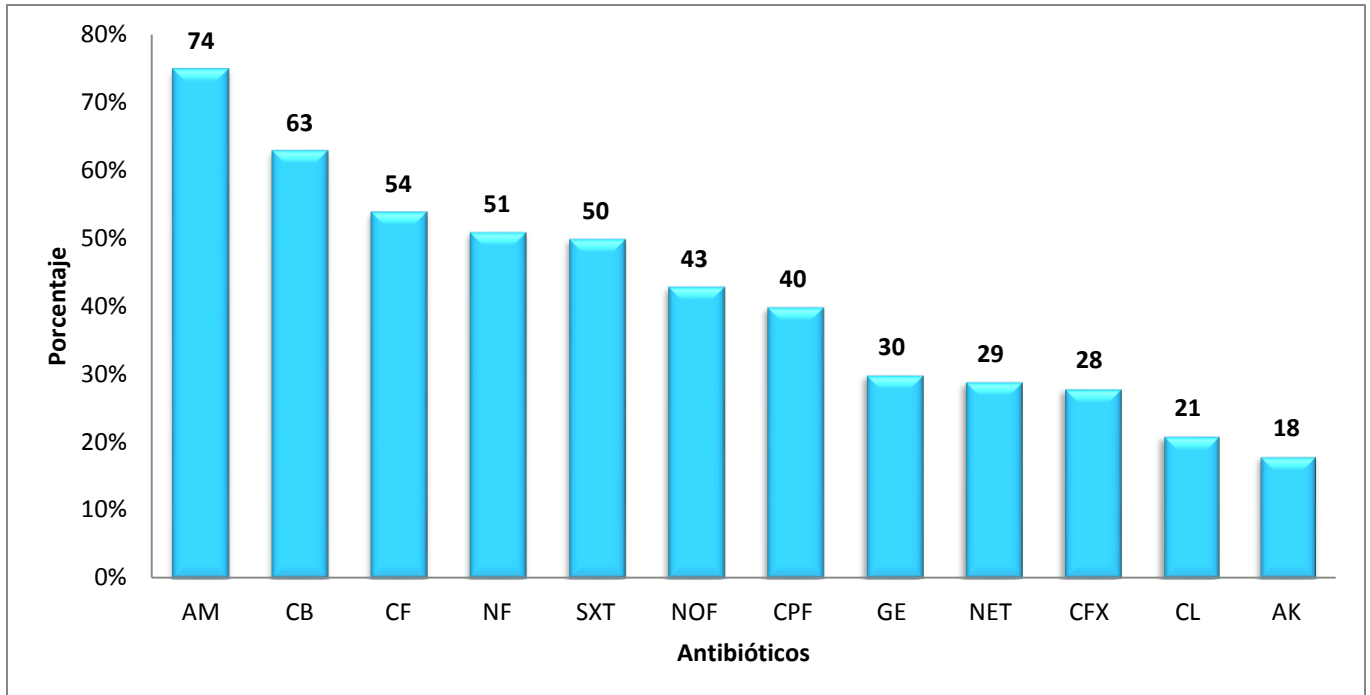


Figura 3. Resistencia de *E. coli* a antibióticos. **AM** (ampicilina), **CB** (carbenicilina), **CF** (cefalotina), **CFX** (cefotaxima), **CPF** (ciprofloxacina), **CL** (cloranfenicol), **NF** (nitrofurantoina), **AK** (amikacina), **GE** (gentamicina), **NET** (netilmicina), **NOF** (norfloxacina), **SXT** (trimetoprim- sulfametoxazol).

6.5.1. Resistencia a los antibióticos en cepas del Filogrupa A

Las cepas de *E. coli* pertenecientes al grupo filogenético A (n=26), presentaron la frecuencia más alta de resistencia a la ampicilina con el 73% (n=19), carbenicilina (CB) con el 50% (n=13) y cefalotina (CF) con el 35% (n=9). También se encontró resistencia a la quinolona ciprofloxacina (CPF) con el 31% (n=8), nitrofurantoina (NF) con 27% (n=7) y trimetoprim/sulfametoxazol (SXT) con 23% (n=6) (**Figura 4**).

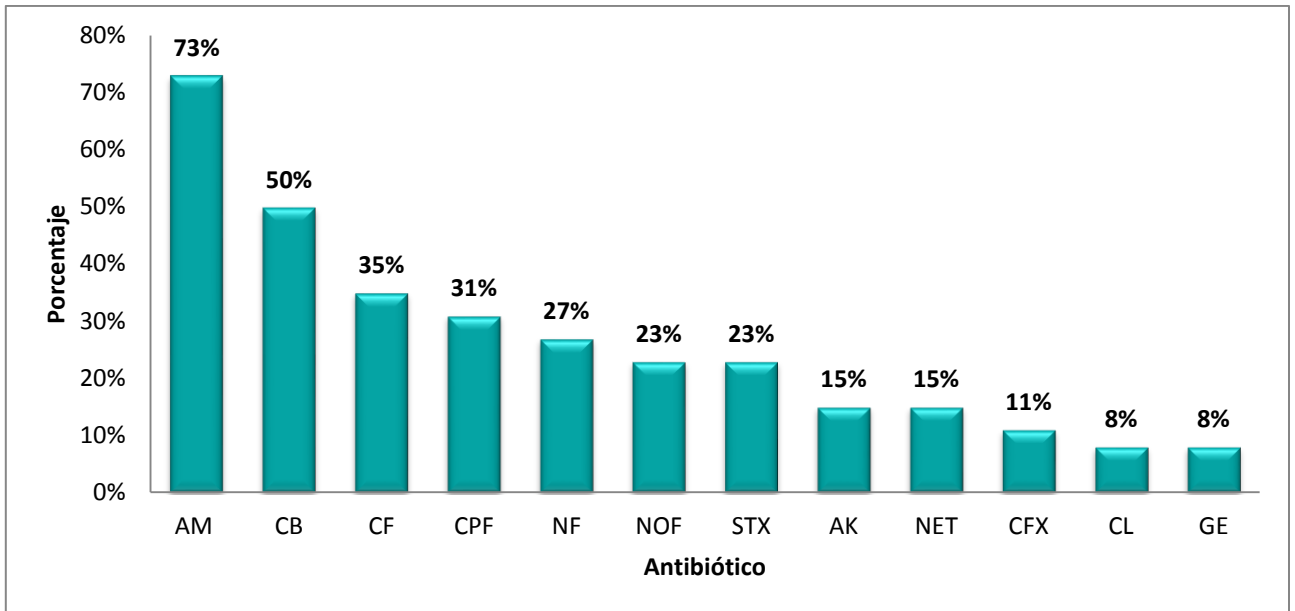


Figura 4. Resistencia a los antibióticos en cepas del Filogrupo A

6.5.2. Resistencia a los antibióticos en cepas del Filogrupo B1

El 90% (n=9) de las cepas del grupo filogenético B1 fue resistente a ampicilina (AM), seguido por el 80% (n=8) a norfloxacin, el 60% (n=6) a carbenicilina (CB) y cefalotina (CF), en cada caso, 50% (n=5) a trimetoprim/sulfametoxazol (SXT) y 40% (n=4) a gentamicina (GE) y cloranfenicol (CL), en cada caso (**Figura 5**).

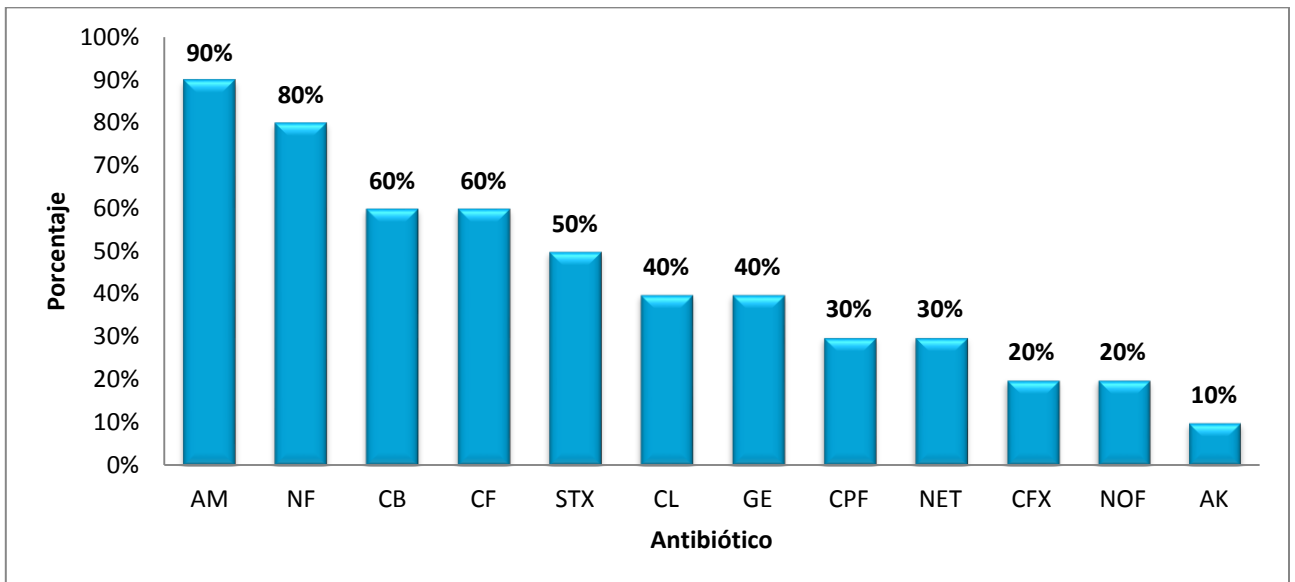


Figura 5. Resistencia a los antibióticos en cepas del Filogrupo B1

6.5.3. Resistencia a los antibióticos en cepas del Filogrupo B2

El 86% (n=80) de las cepas de *E. coli* pertenecientes al grupo filogenético B2 fue resistente a ampicilina (AM), seguido por carbenicilina (CB) con el 80% (n=75), cefalotina (CF) con 67% (n= 62), nitrofurantoína (NF) con 66% (n=61), trimetoprim/sulfametoxazol (SXT) con 64% (n=60) y la quinolona norfloxacin (NOF) con 58% (n=54) (**Figura 6**).

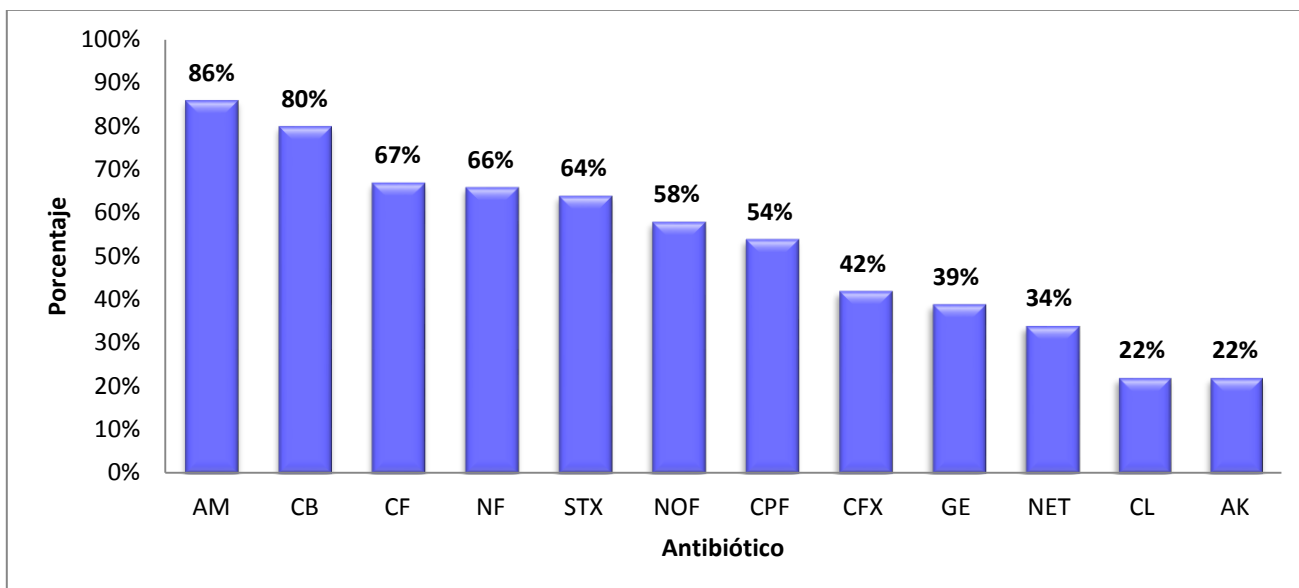


Figura 6. Resistencia a los antibióticos en cepas del Filogrupo B2.

6.5.4. Resistencia a los antibióticos en cepas del Filogrupo C

El 81% (n=13) de las cepas pertenecientes al grupo filogenético C fue resistente a ampicilina (AM), y cefalotina (CF) en ambos casos, 81% (n=13), seguido por 75% (n=12) para carbenicilina (CB), 69% (n=11) a trimetoprim/sulfametoxazol (SXT), y 56% (n=9) a norfloxacin (NOF) y Cloranfenicol (CL), en ambos casos (**Figura 7**).

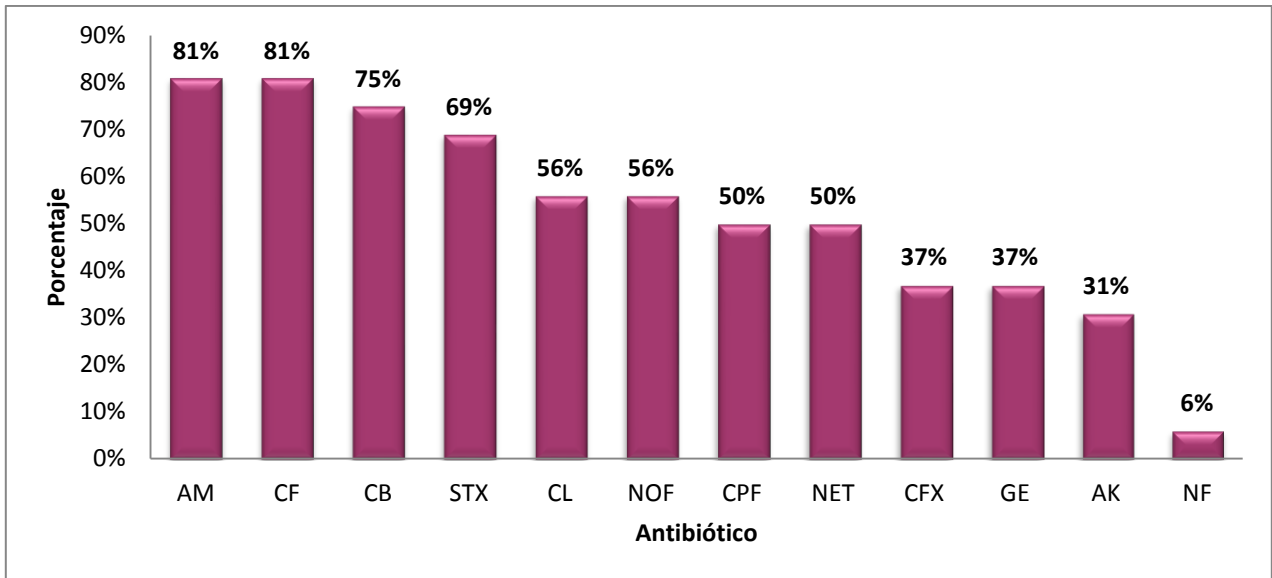


Figura 7. Resistencia a los antibióticos en cepas del Filogrupo C

6.5.5. Resistencia a los antibióticos en cepas del Filogrupo D

El 86% (n=19) de las cepas de *E. coli* incluidas en el grupo filogenético D fue resistente a la ampicilina (AM), el 64% (n=14) al trimetoprim/sulfametoxazol (SXT), 59% (n=13) a carbenicilina (CB) y 50% (n=11) a cefalotina (CF) (**Figura 8**).

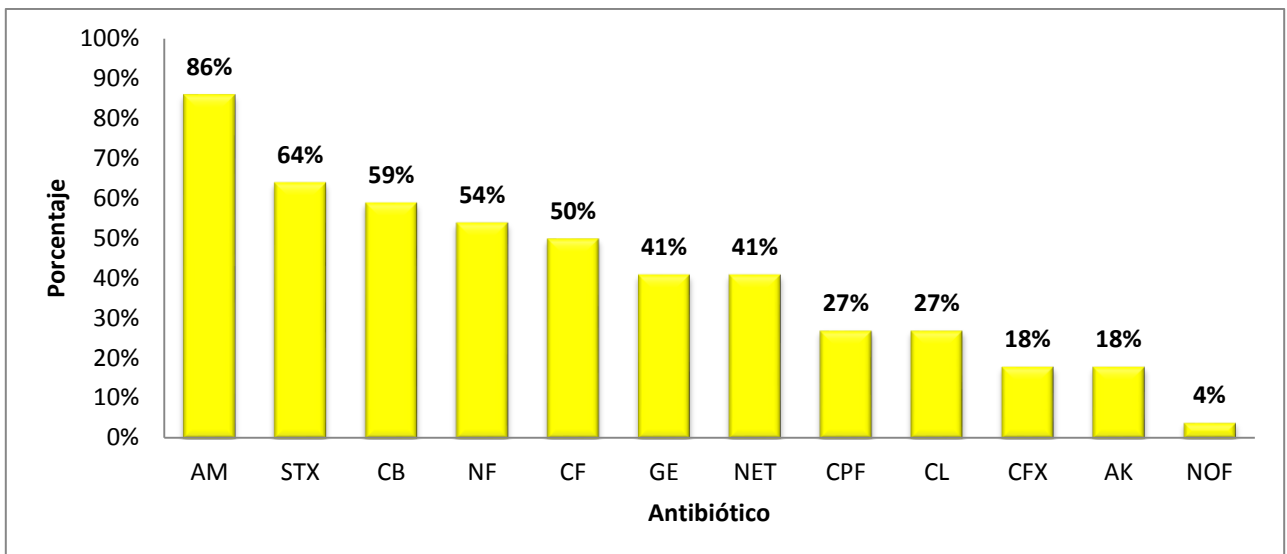


Figura 8. Resistencia a los antibióticos en cepas del Filogrupo D.

6.5.6. Resistencia a los antibióticos en cepas del Filogrupo F

El 100% (n=4) de las cepas del grupo filogenético F fue resistente a ampicilina y cefalotina, en ambos casos (AM y CF), 75% (n=3) a carbenicilina, nitrofurantoina (NF) y norfloxacina (NOF), en cada caso y 50% (n=2) a ciprofloxacina (CPF). Todas las cepas del filogrupo F mostraron sensibilidad a cefotaxima (CFX), siendo el único filogrupo que mostró sensibilidad a este antibiótico (**Figura 9**).

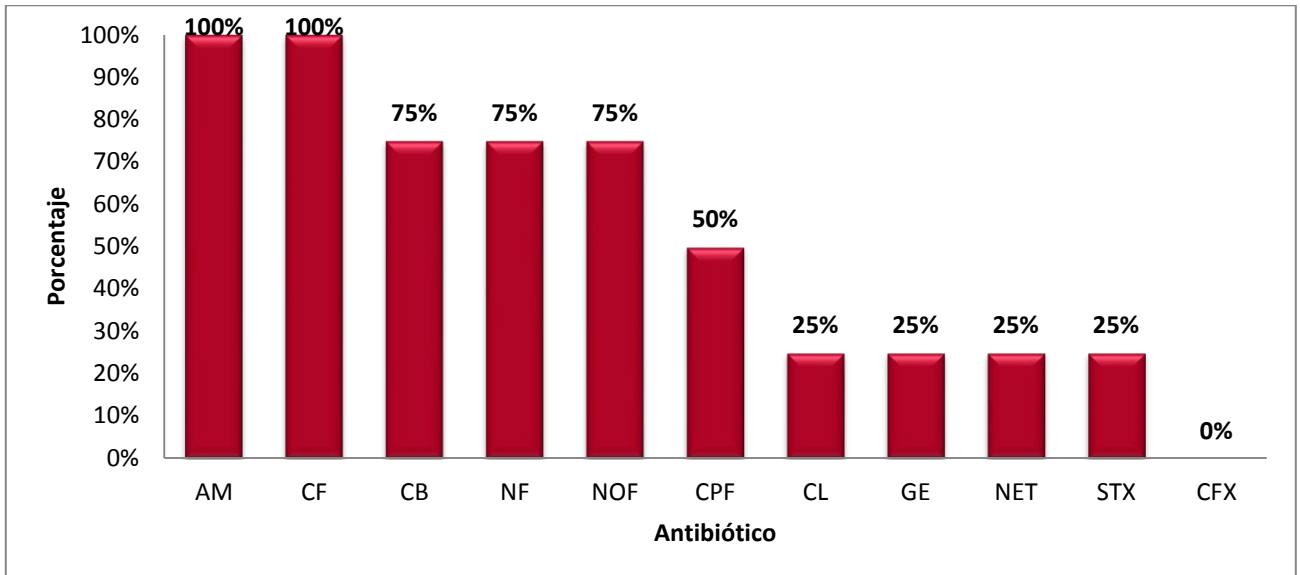


Figura 9. Resistencia a los antibióticos en cepas del Filogrupo F.

6.5.7. Resistencia a los antibióticos en cepas del Filogrupo Clade I

El 50% (n=4) de las cepas pertenecientes al grupo filogenético Clade I fue resistente a ampicilina (AM) y cefalotina (CF) en ambos casos, 37% (n=3) a carbenicilina (CB), norfloxacina (NOF) y trimetoprim/sulfametoxazol (STX) (**Figura 10**).

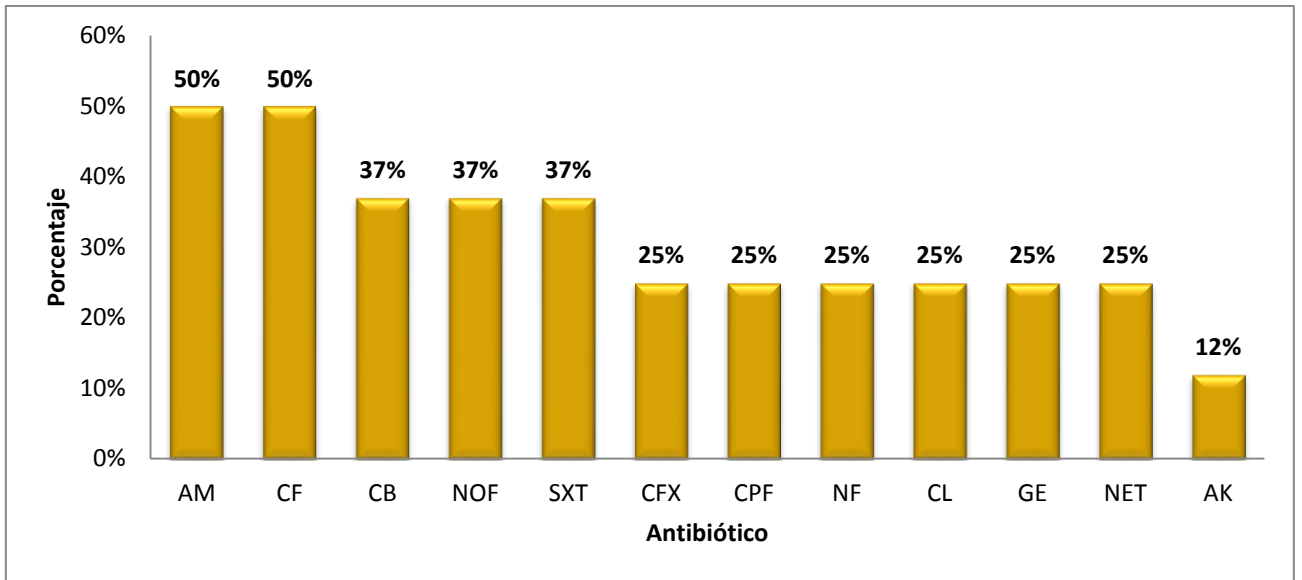


Figura 10. Resistencia a los antibióticos en cepas del grupo Clade I.

7. Discusión

7.1 Pacientes estudiadas

Para el desarrollo de este estudio se analizaron 210 mujeres con signos y síntomas de infección cérvico-vaginal, durante su asistencia a las clínicas del IMSS, No. 62 y No. 64, y del servicio de ginecología de la Clínica Universitaria de la Salud Integral (CUSI) de la FES Iztacala, UNAM. En las mujeres los trastornos inflamatorios causados por las infecciones cérvico-vaginales son el motivo más frecuente de visitas ginecológicas, con elevadas repercusiones en el estado de salud y en la vida social (Rashki, 2014).

En este estudio el rango de edad más frecuente entre las pacientes analizadas fue el de 31 a 50 años con el 41 % (n= 86). Se ha descrito que las infecciones vaginales afectan a miles de mujeres en el mundo, principalmente al grupo de edad que comprende de los 15 a los 44 años de edad, sean o no sexualmente activas (Secretaría de Salud, 2015).

7.2. Identificación de *E.coli* en las pacientes con infección cérvico-vaginal

En este estudio *E. coli* fue identificada en el 96% (n=200) de las infecciones cérvico-vaginales mediante la amplificación del gen 16S rRNA por PCR (Fotografía 1). La amplificación del gen 16S rRNA es uno de los métodos de biología molecular más preciso para identificar microorganismos (Janda *et al.*, 2007). La elevada frecuencia de *E. coli* identificada en este estudio en las mujeres estudiadas (Figura 1) pone de manifiesto que en México esta bacteria es la causa principal de las infecciones cérvico-vaginales, principalmente en mujeres jóvenes en edad reproductiva, en donde los cambios hormonales, el uso de anticonceptivos orales y/o la mala higiene pueden ser factores importantes para infección por *E. coli*. Se ha descrito de manera global que *E. coli* cérvico-vaginal patógena (CVPEC) es responsable de la mayoría de las infecciones del tracto urogenital, que afecta a más del 60% de las mujeres durante alguna etapa de sus vidas (Rashki, 2014). Estudios previos han mostrado que la colonización vaginal por *E. coli* es el primer paso en la patogénesis de la cistitis aguda, de tal manera que la colonización vaginal persistente con *E. coli* se ha asociado con el desarrollo de infecciones urinarias recurrentes en mujeres (Kunin *et al.*, 1980)

7.3. Grupos filogenéticos en *E.coli* cérvico-vaginales

En este estudio se encontró que el filogrupo identificado con mayor frecuencia en las cepas de *E. coli* fue B2 con el 46.5 % (n= 93), seguido por los filogrupos A con 13% (n= 26), D con 11% (n=22), C con 8 % (n=16), B1 con 5% (n= 10) (Tabla 6). Estos resultados son similares con lo reportado en un estudio realizado en Irán por Rashki (2014), en un grupo de cepas de *E. coli* patógenas cérvico-vaginales (n=132), en donde el filogrupo con más frecuencia fue el B2 con un 62% (n=82), seguido por los filogrupos A con el 19% (n=25) y D con el 7% (n=9). Por otro lado los resultados de este trabajo difieren con lo reportado por Obata-Yasuoka (2002), en un grupo de 88 cepas vaginales de *E. coli* aisladas de mujeres japonesas. Estos autores encontraron que los filogrupos más frecuentes fueron el B2 con el 76% (n=66), seguido por los filogrupos D con 16 % (n=14) y A con el 8% (n=7).

Se ha descrito que las cepas patógenas extraintestinales derivan principalmente del grupo filogenético B2 y en menor medida por el filo grupo D. Por el contrario las cepas de origen comensal pertenecen a los filogrupos A y B1 (Johnson *et al.*, 2000), comparadas con las cepas de los grupos B2 y D presentan más genes de virulencia en relación a las cepas de los grupos A y B1 (Picard, 1999). En este estudio el filogrupo A se encontró en el 13% (n=26) de las cepas estudiadas (Tabla 6), por lo que probablemente estas cepas tuvieron un origen comensal y posteriormente colonizaron el tracto cérvico-uterino.

7.4. Resistencia a los antibióticos

La emergencia de cepas bacterianas resistentes a los antibióticos es un serio problema de salud que complica el tratamiento de las infecciones (Soto, 2006). En este estudio se encontró que la mayoría de las cepas fue resistente a los antibióticos β -lactámicos, ampicilina (AM) con el 74% (n=149), carbenicilina (CB) con el 63% (n=127) y cefalotina (CF) con el 54% (n=109), seguidos por la quinolona norfloxacin (NOF) con un 43 % (n=87), trimetoprim con sulfametoxazol (SXT) con el 50% (n=100) (Figura 3). Los resultados de este estudio coinciden con los descritos por Rashki, (2014) para cepas vaginales de *E. coli*, cuya resistencia a ampicilina fue del 94.7% (n=124), trimetoprim 91.7% (n=120) y cefalotina 62.4% (n=82). Se ha descrito que los principales antibióticos para tratar las infecciones urogenitales son trimetoprim-sulfametoxazol, cefalosporinas, penicilinas semisintéticas con o sin inhibidores de β -lactamasas y las quinolonas (Arslan, 2005)

7.5 Asociación de los fenotipos de resistencia a antibióticos en los diferentes Filogrupos en las cepas de *E. coli*.

Para identificar los diferentes grupos filogenéticos en las cepas vaginales de *E. coli*, se utilizó el método descrito por Clermont *et al.*, (2000) que se basa en la presencia de los genes *chuA*, un gen requerido para el transporte de grupos hemo; *yjaA*, un gen identificado recientemente en la secuencia completa en el genoma de *E. coli*, y *TspE4.C2* que es un fragmento de DNA. El gen *chuA* está presente en los filogrupos A, B1 y B2, mientras que el gen *yjaA* se encuentra en los filogrupos B2 y D. El gen *TspE4.C2* está presente en la mayoría de los filogrupos, excepto en B1 y A. Se ha descrito que la resistencia a los antibióticos puede variar según el grupo filogenético al que pertenecen las cepas de *E. coli* (Soto, 2006).

En este estudio la mayoría de las cepas de *E. coli* de origen vaginal asignadas a los diferentes grupos filogenéticos fue resistente a los antibióticos β -lactámicos ampicilina con el 74% (n= 149), y carbenicilina (CB) con el 63% (n= 127), seguido de cefalotina (CF) con el 54% (n= 109), trimetoprim con sulfametoxazol (SXT) con el 50% (n=100) y la quinolona norfloxacin (NOF) con el 43 % (n=87) (Figura 3). Estos resultados son similares a los obtenidos por Rashki (2014) en Irán en cepas vaginales de *E. coli*, en donde la mayoría de las cepas fue resistente a ampicilina, cefalotina y trimetoprim con sulfametoxazol, y también con los descritos en cepas uropatógenas de *E. coli* aisladas de pacientes con infecciones del tracto urinario en México, en donde la mayoría de las cepas fue resistente a ampicilina, carbenicilina y cefalotina (Paniagua *et al.*, 2015). La multirresistencia a penicilina, cefotaxima, ceftazidima y tetraciclina ha sido asociada recientemente con los filogrupos B2, D y A en cepas UPEC (Cortés *et al.*, 2017) y la resistencia a ampicilina, amoxicilina-ácido clavulánico, tetraciclina, ácido nalidixico, ciprofloxacina y trimetoprim-sulametoxazol en cepas UPEC pertenecientes a los filogrupos B2, A, D y B1 (Oliveira *et al.*, 2017). Los porcentajes de resistencia a antibióticos encontrados en nuestros filogrupos son semejantes a los descritos recientemente en los filogrupos B2, B1 y C de cepas UPEC productoras de ESBL (Extended-spectrum β lactamases) (Alyamani *et al.*, 2017), y también con los descritos para los filogrupos B2, A, D y B1 de cepas de *E. coli* uropatógenas (Oliveira *et al.*, 2017). La elevada resistencia a múltiples antibióticos en las cepas UPEC analizadas puede deberse a que en el sistema de seguridad social de salud de México se ha ampliado la administración terapéutica de varios grupos de antibióticos para erradicar las infecciones cérvico-vaginales lo que ha ocasionado la propagación de cepas multirresistentes entre la comunidad, con capacidad

para transferir horizontalmente elementos genéticos m3viles, como pl3smidos, transposones e integrones (Hall & Collis 1998).

8. Conclusiones

1. En este estudio *E. coli* fue la principal bacteria responsable de las infecciones cérvico-vaginales.
2. El filogrupo más frecuente entre las cepas de *E. coli* fue el B2, seguido por el A, D y C.
3. Los resultados evidenciaron la presencia de los filogrupos F y crítico Clade I. Existen pocos estudios que mencionen la frecuencia de estos filogrupos, por lo que es importante impulsar el desarrollo del estudio de estos filogrupos de *E. coli* que causan infecciones extraintestinales.
4. Los resultados evidenciaron la elevada resistencia a los antibióticos en los diferentes grupos filogenéticos de *E. coli*, principalmente en los grupos B2, A y D, por lo que es importante actualizar los tratamientos médicos en el sector salud, con la finalidad de disminuir la propagación de cepas multirresistentes a los antibióticos. La mayoría de las cepas de *E. coli* pertenecientes a los filogrupos B2, A y D fue resistente a los antibióticos β -lactámicos ampicilina, carbenicilina y cefalotina.
5. El presente estudio es la primer investigación realizada en México, para conocer la relación entre la resistencia a los antibióticos con los filogrupos de *E. coli* que causan infección cérvico vaginal.

9. Referencias

1. Aguayo A, Mella S, Riedel G, Bello H, Domínguez M, González-Rocha G. 2016. Colistín en la era post-antibiótica. *Rev Chilena Infectol.* 33: 166-176.
2. Álvarez-Hernández DA, Garza-Mayén GS, Vázquez-López R. 2015. Quinolonas. Perspectivas actuales y mecanismos de resistencia. *Rev Chilena Infectol.* 32: 499-504.
3. Alyamani EJ, Khiyami AM, Booq RY, Majrashi MA, Bahwerth FS, Rechkina E. 2017. The occurrence of ESBL-producing *Escherichia coli* carrying aminoglycoside resistance genes in urinary tract infections in Saudi Arabia. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 16: 1.
4. Arslan A, Ilhak I, Calicioglu M, Karahan M. 2005. Identification of meats random amplified polymorphic DNA (rapd) technique. *J Muscle Foods.* 16: 37-45.
5. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. 1966. Prueba de susceptibilidad a antibióticos mediante un método de disco único estandarizado. *Am J Clin Pathol.* 45: 493-496.
6. Cortès-Cortès G, Lozano-Zarain P, Torres C, Alonso CA, Ríos-Torres AM, Castañeda M, Lopez-Pliego L, Navarro A, Del Carmen Rocha- Gracia R. 2017. Extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from healthy humans in Mexico, including subclone ST131-B2-O25: H4-H30-Rx. *J Glob Antimicrob Resist.* 9: 130- 134.
7. Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. 2000. Rapd and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Appl Environ Microbiol.* 66:4555-4558.
8. Clermont O, K. Christenson J, Denamur E, M. Gordon D. 2013. The Clermont *Escherichia Coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. *Env Micro Reports.* 5: 58–65.
9. Fica A. 2014. Resistencia antibiótica en bacilos Gram negativos, cocáceas Gram positivos y anaerobios. Implicancias terapéuticas. *Rev Med Clin CONDES.* 25(3) 432-444.
10. González-Pedraza AA, Ortiz ZC, Dávila MR, Valencia GCM. 2007. Infecciones cérvico-vaginales más frecuentes; prevalencia y factores de riesgo. *Rev Cub Obstet.* 33:2-6

11. Hall RM, Collis CM. 1998. Antibiotic resistance in gram-negative bacteria: the role of gene cassettes and integrons. *Drug Resist Updat.* 1:109-119.
12. Hall RM, Stokes HW. 2004. Integrons or super integrons? *Microbiol.* 150:3-4.
13. Janda JM, Abbott SL. 2007. 16´S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls. *J Clin Microbiol.* 45: 2761-2764.
14. Jill E. 2004. Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clin Microbiol Rev.* 17: 840-862.
15. Johson RJ, Stell LA. 2000. Extended virulence genotypes of *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise. *J infect Dis.* 181:261-272.
16. Koneman WE, Procop WG, Scheckenberger CP, Woods LG. 2008. *Diagnóstico microbiológico*, texto y atlas a color. Capítulo 6, *Enterobacteriaceae*. Editorial Médica Panamericana. Sexta edición.
17. Kunin CM, Polyak F, Postel E. 1980. Periurethral bacterial flora in women. Prolonged intermittent colonization with *Escherichia coli*. *JAMA.* 243:134-139.
18. Mammeri H, Van De Loo M, Poirel L, Martínez-Martínez L, Nordmann P. 2005. Emergence of plasmid-mediated quinolone resistance in *Escherichia coli* in Europe. *Antimicrob Agents Chemother.* 49:71–76.
19. Mendoza Patiño N, Campos Sepúlveda AE. 2007. Actualidades farmacológicas, Tetraciclinas. Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, UNAM.
20. Momtaz H, Karimian A, Madani M, Dehkordi SF, Ranjbar R, Sarshar M, Souod N. 2013. Uropathogenic *Escherichia coli* in Iran: Serogroup distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 12:1-12.
21. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. 2014. *Microbiología médica*. Capítulo 25, *Enterobacteriaceae*. Elsevier Mosby. Séptima edición.
22. Obata-Yasuoka M, Ba-Thein W, Tsukamoto T, Yoshikawa H, Hayashi H. 2002. Vaginal *Escherichia coli* share common virulence factor profiles, serotypes and phylogeny with other extraintestinal *E. coli*. *Microbiol.* 148: 2745–2752.

23. Oliveira- Pinto C, Diamantino C, Oliveira PL, Reis MP, Costa PS, Paiva MC. 2017. Occurrence and characterization of class 1 integrons in *Escherichia coli* from healthy individuals and those with urinary infection. *J Med Microbiol.* 66: 577-583.
24. Padilla C, Lobos G. O, Padilla E. R, Fuentes L, Núñez F. L. 2007. Aislamiento de cepas de *Escherichia coli* desde casos clínicos de infección vaginal: Asociación con otros microorganismos y susceptibilidad antibacteriana. *Rev Chil Obstet Ginec.* 72: 222-228.
25. Palomino J, Panchón J. 2003. Aminoglucósidos. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 21: 105-115.
26. Paniagua GL, Monroy-Pérez E, Vaca S. 2007. PCR *Manual de identificación de Escherichia coli y Salmonella spp* en materia fecal. Universidad Nacional Autónoma de México, pp.43-70.
27. Paniagua GL, Monroy-Pérez E, Vaca S. 2015. *Manual de Identificación de Escherichia coli y Salmonella spp* en materia fecal. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. pp. 75
28. Peleg AY, Hooper RC. 2010. Hospital- acquired infections due to gram- negative bacteria. *N Engl J Med.* 362:1804-1813.
29. Picard B, García Sevali J, Gouriou S, Duriez P, Brahimi N, Bingen E, Elion J, Denamur E. 1998. The link between phylogeny and virulence in *Escherichia coli* extraintestinal infection. *American Society for Microbiology.* 67: 546–553.
30. Randall LP, Cooles SW, Osborn MK, Piddock LJ, Woodward MJ. 2004. Antibiotic resistance genes, integrons and multiple antibiotic resistance in thirty fives erotypes of *Salmonella enterica* isolated from humans and animals in the UK. *J Antimicrobio Chemother.* 53: 208–216.
31. Rashki A. 2014. Cervico-vaginopathogenic *Escherichia coli* in Iran: Serogroup distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties. *Microb Pathog.* 75: 29-34.
32. Rodríguez-Angeles G. 2002. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud Pública Méx.* 44: 464-475.

33. Russo AT, R. Johnson J. 2003. Medical and economic impact of extraintestinal infections due to *Escherichia coli*: focus on an increasingly important endemic problem. *Microbes and Infection*. 5: 449–456.
34. Sánchez RJA, Serrano JS, Jodral VML. 2009. *Patógenos emergentes en la línea de sacrificio porcino, fundamentos de seguridad alimentaria*. Capítulo 7, *Escherichia coli* enterohemorrágico serotipo O:157:H7.
35. Secretaría de Salud. 2015. ¿Qué son las infecciones vaginales? Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud. *Epidemiología*. 51:1-3.
36. Soto MS. 2006. Expresión de factores de virulencia en cepas extraintestinales de *Escherichia coli*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 24:479-80.
37. Tafur JD, Torres JA, Villegas MV. 2008. Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. Centro Internacional de Investigaciones Médicas (CIDEIM). Cali, Colombia. 12: 217- 226.
38. Toro CS, Farfán M, Contreras I, Flores O, Navarro N, Mora GC, Prado. 2005. Genetic analysis of antibiotic-resistance determinants in multidrug resistant *Shigella* strains isolated from Chilean children. *Epidemiol Infect*. 133: 81–86.
39. Van TT, Chin J, Chapman T, Tran LT, Coloe PJ. 2008. Safety of raw meat and shellfish in Vietnam: an analysis of *Escherichia coli* isolations for antibiotic resistance and virulence genes. *Int J Food Microbiol*. 124: 217–223.
40. Vignoli R, Seija V. 2008. Principales mecanismos de resistencia antibiótica. *Temas de Bacteriología y Virología Medica*; pp. 649-652.
41. Wiles JT, Kulesus RR, Mulvey MA. 2008. Origins and virulence mechanisms of uropathogenic *Escherichia coli*. *NIH- Public Acces Author Manuscript*. 85:11–19.
42. Zhao L, Chen X, Zhu X, Yang W, Dong L, Xu X, Gao S, Liu X. 2009. Prevalence of virulence factors and antimicrobial resistance of uropathogenic *Escherichia coli* in Jiansu Province (China). *Urol*. 74: 702-707.