



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA**

**IDENTIFICACIÓN DE LOS GENES QUE CODIFICAN  
PARA LA CÁPSULA EN CEPAS  
CÉRVICO-VAGINALES DE  
*Escherichia coli***

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**B I Ó L O G A**

**PRESENTA:**

**OLVERA NAVARRO ELIZABETH**

**DIRECTORA DE TESIS:**

**Dra. Gloria Luz Paniagua Contreras**

**Proyecto financiado por la UNAM-DGAPA-PAPIIT IN216517.**



Los Reyes Iztacala, Estado de México, 2019



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.

# *Dedicatoría*

## **A mi madre Martha Navarro**

Por haberme apoyado desde el inicio de mi carrera, sin su ayuda esto no sería posible, por la confianza de que lo lograría y a todos sus consejos que siempre estarán conmigo, por demostrarme que es un ser excepcional capaz de soportar todo y estar siempre con la frente en alto.

## **A mi familia:**

Por estar siempre a mi lado y ser el principal motor para lograr esto, a mi esposo Erick Dimitri por apoyarme de manera incondicional, por confiar en mí y por todo su amor que nos permitió soportar miles de altibajos y estar siempre ahí, a mi hija Ariel Maxim por todo su cariño, por soportar mis ausencias y ser la personita que siempre creyó en mí. Ustedes son mis compañeros de vida, porque no fue fácil terminar esto, pero lo hemos logrado. Infinitas gracias. LOS AMO.

## **A Adriana Marlen:**

Por ser esa gran amiga que tuve la fortuna de conocer desde el primer día de clases, porque siempre estuvo conmigo y siempre me hace sentir como la más lista, siempre dándome consejos y porque espero que estés para mí aun después de terminar esto. TE QUIERO, hiciste esta etapa de mi vida única.

## *Agradecimientos*

Al **Dr. Sergio Vaca Pacheco** por abrirme las puertas de su laboratorio y brindarme la confianza para realizar este proyecto, por sus buenos consejos acompañados de su buen humor, por todo su apoyo y por su tiempo dedicado a correcciones. Un eterno agradecimiento.

A la **Dra. Gloria Luz Paniagua Contreras** por abrirme las puertas del laboratorio de análisis clínicos, por su apoyo, supervisión y sugerencias para la realización de este proyecto de investigación.

Al **Dr. Eric Monroy Pérez** por sus enseñanzas, por todo el tiempo que dedicó a aclarar dudas, realizar revisiones y su apoyo para la elaboración de este proyecto.

Un agradecimiento al comité revisor:

Dr. Felipe Vaca Paniagua

Mtra. Alina Uribe García

Biol. Susana González Almazán

Por su interés, sugerencias y asesoría para la realización de este trabajo.

Un profundo agradecimiento a la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme ser parte de esta máxima casa de estudios, por brindarme un segundo hogar y permitirme adquirir todos los conocimientos de la licenciatura más maravillosa.

Un agradecimiento a la DGAPA: por la financiación de este proyecto de tesis, por la

**UNAM-DGAPA-PAPIIT IN216517.**

## ÍNDICE

1	RESUMEN.....	1
2	INTRODUCCIÓN.....	2
	2.1. Características de <i>Escherichia coli</i> .....	2
	2.2. Patología de <i>Escherichia coli</i> .....	3
	2.3. Factores de virulencia .....	4
	2.4. Estructura antigénica.....	6
	2.5. Importancia de Antígenos Capsulares .....	7
	2.6. Infecciones Cérvico-Vaginales .....	8
3	ANTECEDENTES .....	9
4	JUSTIFICACIÓN .....	10
5	OBJETIVOS .....	10
	5.1. Objetivo general .....	10
	5.2. Objetivos Particulares.....	10
6	MATERIALES Y METODOS .....	11
	6.1. Obtención de muestras .....	11
	6.2. Extracción de DNA .....	11
	6.3. Identificación de <i>E. coli</i> por PCR convencional.....	12
	6.4. PCR convencional .....	13
	6.5. Electroforesis.....	14
7	RESULTADOS .....	15
	7.1. Origen de las cepas de <i>E. coli</i> .....	15
	7.2. Edad de pacientes analizadas .....	16
	7.3. Identificación de <i>E. coli</i> por PCR convencional.....	17
	7.4. Patologías y obesidad de las mujeres estudiadas .....	18
	7.5. Distribución de antígenos capsulares en <i>E. coli</i> .....	19
8	DISCUSIÓN.....	27
	8.1. Pacientes analizadas.....	27
	8.2. Edad de las pacientes en las infecciones vaginales por <i>Escherichia coli</i> .....	28
	8.3. Patología presente en la infección cérvico-vaginal .....	29

8.4. Antígeno Capsular .....	29
9 CONCLUSIONES .....	32
10 LITERATURA CITADA .....	33

## 1 RESUMEN

La cronicidad y recurrencia de las infecciones vaginales causadas por *Escherichia coli* se han incrementado en los últimos años en México, debido principalmente a la presencia de cápsula que protege a la bacteria contra la respuesta inmune del hospedero y contra la acción de los antibióticos. El objetivo de este estudio fue determinar la distribución de diez antígenos capsulares en 200 cepas de *E. coli* cérvico-vaginales. En este estudio *E. coli*, y los diferentes antígenos capsulares K fueron identificados por PCR convencional. Se encontraron 9 antígenos capsulares en las cepas vaginales de *E. coli*, dentro de los cuales la mayor frecuencia fue del antígeno K2ab con el 37.5% (n=75), seguido del antígeno K20 con el 23% (n=46), K11 con el 11.5% (n=23) y K92 con el 10% (n=20). La presencia de diferentes antígenos capsulares en *E. coli* está asociada a la cronicidad de las infecciones cérvico-vaginales, por lo que su estudio podría ser útil para el desarrollo de una vacuna que pueda contrarrestar las infecciones vaginales ocasionadas por este microorganismo.

## 2 INTRODUCCIÓN

### 2.1. Características de *Escherichia coli*

La familia *Enterobacteriaceae* está formada por un grupo muy diverso de bacterias que tiene como hábitat natural el intestino del hombre y de varias especies animales (Cabello, 2007). Dentro de las enterobacterias de importancia médica se encuentra *Escherichia coli*, un bacilo Gram negativo de 1 a 3 micras, móvil con flagelos peritricos de 12 a 30 nanómetros, presenta fimbrias con un tamaño de 2 a 3 nanómetros y es capaz de crecer tanto en aeróbiosis como anaeróbicamente.

*Escherichia coli* fue descrita por primera vez por el pediatra alemán-austriaco, Theodor Escherich, a fines del siglo XIX en la flora intestinal de infantes, la denominó bacilo de colón común *Bacterium coli commune*, que finalmente fue rebautizada en su honor como *Escherichia coli* (Kaper, 2005; Ronnie, 2015).

Esta enterobacteria crece en el medio de cultivo EMB (Eosina Azul de Metileno), donde las colonias presentan un tamaño de 2 a 4 mm con un centro de color negro u obscuro y exhiben un brillo verde metálico característico que se debe a la rápida fermentación de la lactosa, mientras que en el medio MacConkey las colonias son rosas a rojas.

En las pruebas bioquímicas *E. coli* es una bacteria oxidasa negativa, indol y manitol positivas, lactosa positiva con citrato negativo.



## 2.2. Patología de *Escherichia coli*

*Escherichia coli* coloniza el tracto gastrointestinal de los recién nacidos en sus primeras horas de vida y establece una simbiosis con el cuerpo humano, formando parte de la microbiota facultativa no patógena predominante del intestino humano. Sin embargo, algunas cepas de *E. coli* han desarrollado la capacidad de causar enfermedades cuando existe una alteración de las defensas del huésped, causando infecciones en el sistema gastrointestinal, urinario o nervioso central (Nataro & Kaper, 1998).

La transmisión de *Escherichia coli* se lleva a cabo por la vía fecal-oral y en países en vías de desarrollo su principal vía de transmisión es el agua contaminada, sin embargo, en países industrializados esta transmisión está dada por alimentos (Vidal-Graniel, 2003).

Basándose en criterios genéticos y clínicos, las cepas de *E. coli* pueden ser clasificadas en 3 grupos: cepas comensales (que viven a expensas de otras, beneficiándose), cepas patógenas intestinales y cepas patógenas extraintestinales. Las cepas comensales constituyen el núcleo de la microbiota fecal en humanos, mamíferos y aves; las cepas intestinales se comportan esencialmente como patógenos obligados y causan gastroenteritis, de éstas se han descrito 6 patotipos: Enterotoxigénica (ETEC), causante de la diarrea del viajero. Enterohemorrágica o productoras de toxina Vero o Shiga toxina (EHEC / STEC), la cual ocasiona síndrome urémico hemolítico, anemia hemolítica y muerte. Enteroinvasiva (EIEC), que invade y destruye las células epiteliales del colón, causando fiebre y diarrea aguda sanguinolenta. Enteropatógena (EPEC), es la causa más común de diarrea infantil. Enteroagregativa (EAEC,) provoca diarrea aguda y *E. coli* de adherencia difusa (DAEC), responsable de diarrea en niños menores de un año. Por otro lado *E. coli* patógena extraintestinal (ExPEC), incluye a *E. coli* patógena cérvico-vaginal (CVPEC) y a *E. coli* uropatógena (UPEC), responsables de infecciones vaginales y de infecciones en vías urinarias, respectivamente. (Russo & Johnson, 2000; Rodríguez-Ángeles, 2002; Andreu, 2005; Winn & Koneman, 2008).

### 2.3. Factores de virulencia

Las bacterias poseen diferentes factores de virulencia que promueven la colonización e invasión de los tejidos del hospedero, alterando los mecanismos de defensa, dañando sus tejidos y estimulando una respuesta inflamatoria nociva (Zhao *et al.*, 2009).

Las cepas comensales de *Escherichia coli* generalmente carecen de factores de virulencia especializados, sin embargo *E. coli* extraintestinal (ExPEC) posee claramente una capacidad única para causar enfermedades fuera del tracto intestinal del huésped, debido a una amplia gama de factores asociados a la virulencia, que incluyen (Ewers *et al.*, 2007):

- (i) Las Adhesinas como las fimbrias o el *pili*, permiten la adhesión de las bacterias a receptores específicos de las células del hospedero. Es considerada la primera etapa en el establecimiento de todas las infecciones extraintestinales (Rostand & Esko, 1997; Russo & Johnson, 2000; Johnson & Russo, 2002).
- (ii) Los sistemas de adquisición de hierro son un factor de virulencia importante, para el crecimiento, multiplicación y supervivencia de los microorganismos durante los procesos infecciosos. Los patógenos han desarrollado diversos mecanismos para obtener el hierro del hospedero mediante sideróforos que quelan el hierro con alta afinidad. (Castillo-Rueda & Khosravi-Shahi, 2010; Mora-Rillo, 2013).
- (iii) El Lipopolisacárido (LPS) es un componente de la membrana externa que le permite a la bacteria evadir los sistemas de defensa del huésped. El LPS tiene dos características principales: una porción polisacárida formada por azúcares llamados polisacárido O que permiten establecer una serotipificación y una porción lipídica conocida como endotoxina, la cual ejerce un efecto tóxico en la circulación sanguínea (Soto, 2006; Tortora 2007).

- (iv) Las invasinas o factores de invasión les permite a las bacterias ingresar a las células epiteliales, para reproducirse intracelularmente, de esta manera evaden la respuesta inmune del hospedero (Garza-Velasco *et al.*, 2000).
  
- (v) La Cápsula es una red de polímeros de glucoproteínas que cubre la superficie de una bacteria, su función es proteger a la bacteria de la desecación y de materiales tóxicos del ambiente, promover la concentración de nutrientes en la superficie celular bacteriana; además desempeña un papel en la adherencia a las células y las superficies de mucosas del hospedero y protege a la bacteria de la fagocitosis (Silver *et al.*, 1988; Winn & Koneman, 2008; Cárdenas-Perea *et al.*, 2014).

## 2.4. Estructura antigénica

Las enterobacterias poseen una estructura antigénica compleja compuesta por los antígenos O, K y H, (somático, capsular y flagelar respectivamente), que permite serotipificar, identificar y determinar la patogenicidad de una cepa. Estos antígenos se pueden encontrar en la naturaleza en muchas combinaciones posibles.

Las cepas de *Escherichia coli* se identifican normalmente por tipificación serológica de sus antígenos de superficie; H (flagelar), O (lipopolisacárido) y en algunos casos K (capsular) (Momtaz *et al.*, 2013). *E. coli* tiene más de 173 antígenos somáticos (O), 80 capsulares (K) y 56 flagelares (H) (Ørskov & Ørskov, 1992).

Los antígenos O son la parte externa del lipopolisacárido de la pared celular, son cadenas laterales de polisacárido, algunos con azúcares únicos que les brinda la especificidad serológica, aunque un solo microorganismo puede portar varios antígenos O. Los antígenos O son resistentes al calor y al alcohol (Brooks *et al.*, 2014).

Los antígenos H se localizan en los flagelos de las bacterias que poseen movilidad, los determinantes de los antígenos H dependen de la secuencia de aminoácido en la proteína flagelar (flagelina), estos pueden ser desnaturalizados o eliminados mediante calor o alcohol (Almirante-Gragera, 2002; Brooks *et al.*, 2014).

Los antígenos K pertenecen a la cápsula y son polisacáridos de alto peso molecular que se encuentran unidas a la superficie celular, este antígeno de superficie y el antígeno O protegen a las bacterias de los mecanismos inmunitarios del huésped (Cook *et al.*, 2001).

*Escherichia coli* es un microorganismo capaz de producir cápsulas y la expresión de los diferentes antígenos K está estrechamente asociada con infecciones específicas, estos polisacáridos capsulares se dividen en cuatro grupos de acuerdo con un sistema de clasificación propuesta por Whitfield y Roberts en 1999. Esta clasificación de grupos se basa en la variedad de la composición de los azúcares superficiales, así como sus uniones específicas (Navasa-Mayo, 2009; Ørskov & Ørskov, 1992).

## 2.5. Importancia de Antígenos Capsulares

La colonización vaginal por *Escherichia coli* está asociada con diversas complicaciones genitourinarias, obstétricas y neonatales por lo que el estudio de los antígenos K es de gran importancia para la virulencia bacteriana (Obata-Yasuoka *et al.*, 2002).

Las cepas vaginales de *E. coli* tienen un mayor número de factores de virulencia que las cepas de *E. coli* aisladas de la microbiota fecal, esto se puede deber a que son capaces de adaptarse a las condiciones fisicoquímicas de la cavidad vaginal, por lo que la vagina podría actuar como un filtro parcial que favorece la colonización (Watt *et al.*, 2003; Navasa-Mayo, 2009).

La importancia de los antígenos K se da en relación con las afecciones que causan, un claro ejemplo es el antígeno de *E. coli* K1 que es capaz de colonizar la vagina, cruzar el endocervix y en mujeres embarazadas es capaz de invadir el líquido amniótico causando infecciones neonatales como la meningitis neonatal y el antígeno K5 está asociado a las cepas que causan sepsis (Kaijser & Jodal, 1984; Watt *et al.*, 2003; Kaczmarek *et al.*, 2014).

Se ha demostrado que el antígeno capsular protege a la bacteria de la fagocitosis, del suero humano, del estrés osmótico y de los antibióticos, por lo que es importante dar un seguimiento y profundizar en la investigación de los diferentes antígenos K y de las afecciones que causa *Escherichia coli*, donde se ha observado un incremento como agente causal de infecciones vaginales, para poder realizar una pronta identificación y administrar el tratamiento adecuado para la erradicación del proceso infeccioso.

## 2.6. Infecciones Cérvico-Vaginales

La composición de la microbiota bacteriana en la vagina es compleja y cambia con una multitud de eventos en la vida del paciente, estos cambios pueden propiciar alteraciones en el balance y simbiosis de los microorganismos, causando infecciones cérvico-vaginales, que representan una de las principales causas de consulta en las clínicas de primer nivel de atención médica, principalmente en mujeres en edad reproductiva. Las tres causas más frecuentes de infección vulvovaginal son la vaginitis por *Trichomonas vaginalis*, la vaginitis candidiásica y la vaginosis bacteriana (VB) (Egan *et al.*, 2000; Cook *et al.*, 2001; González-Pedraza *et al.*, 2007; Perea, 2010).

La presencia de *E. coli* patógena cérvico-vaginal (CVPEC) en la cavidad vaginal ha sido descrita como un factor de riesgo importante para el desarrollo de infecciones del tracto urinario (ITU) (Rashki, 2014; Ali *et al.*, 2017). Se calcula que alrededor de 50 por ciento de todas las mujeres en el mundo tendrán al menos una infección del tracto urinario en el transcurso de su vida (Kim *et al.*, 2018, Manjarrez-Hernández, 2012). Estas infecciones son más frecuentes en mujeres que en hombres, debido a la anatomía femenina, con un espacio periuretral húmedo, una distancia más corta entre el ano y la abertura uretral, así como una uretra más corta, además estas infecciones tienen una alta incidencia y prevalencia (Raz *et al.*, 2008; López-Banda *et al.*, 2014). Se cree que las cepas de *E. coli* involucradas en infecciones neonatales se originan en la vagina, que a su vez fue colonizada de una fuente rectal (Krohn *et al.*, 1997).

Los aislamientos de *Escherichia coli* vaginal pueden causar varias infecciones asintomáticas y sintomáticas (Percival-Smith *et al.*, 1983). Los cambios posmenopáusicos facilitan la colonización por *E. coli*, además se han realizado informes que indican que *E. coli* es transmisible sexualmente (Hebelka *et al.*, 1993).

En mujeres embarazadas *E. coli* puede ocasionar meningitis neonatal, esta infección se debe principalmente a la transmisión vertical de la madre a su hijo durante el parto. *E. coli* representa la bacteria Gramnegativa más frecuente involucrada en meningitis neonatal y es la causa más común de muerte fetal (Janda, 2006; Radouani *et al.*, 2014).

### 3 ANTECEDENTES

Watt y colaboradores (2003) detectaron ocho genes que codifican determinantes de virulencia de *E. coli*. Entre ellos se encontró *neuC* asociado al antígeno capsular K1. Estos autores encontraron que el antígeno capsular K1, la hemolisina alfa, el sistema de aerobactina de absorción de hierro, las adhesinas (fimbrias F1C, P pili y S pili) y la proteína IbeA fueron los principales factores de virulencia relacionados con la patogenicidad neonatal debida a *E. coli*.

En el 2007 Padilla y colaboradores analizaron 425 muestras vaginales de mujeres en edad fértil sin embarazo con infección vaginal y 100 muestras de mujeres sanas; Observaron 160 casos de vaginitis y 265 de vaginosis, encontraron que *Gardnerella vaginalis* fue el microorganismo más frecuente aislado de las muestras de mujeres con diagnóstico clínico de infección vaginal (33.2%), seguido por *E. coli* (23.0%). En 26 de las muestras de mujeres sanas se observó la presencia de *G. vaginalis* y en 6 de *E. coli*.

Yang y colaboradores en el 2018 secuenciaron agrupaciones de genes para 9 serotipos de antígeno K de *E. coli*, que permitió seleccionar marcadores moleculares de los genes diana para cada tipo de antígeno capsular, con lo que establecieron una matriz de suspensión rápida, confiable y capaz de detectar e identificar múltiples antígenos K. Se estableció que los antígenos K analizados pertenecen a los cuatro grupos de acuerdo con la clasificación de Whitfield y Roberts en 1999.

## 4 JUSTIFICACIÓN

La caracterización de los diferentes factores de virulencia en cepas cérvico-vaginales de *E. coli* en nuestro país ha sido poco estudiada, especialmente los antígenos capsulares K que juegan un papel relevante en la cronicidad de las infecciones. Debido al incremento en los últimos años de la cronicidad de las infecciones vaginales en nuestro país, el propósito de este trabajo será determinar los diferentes tipos capsulares K en cepas vaginales de *E. coli*.

## 5 OBJETIVOS

### 5.1. Objetivo general

Identificar mediante PCR los diferentes genes que codifican para los antígenos capsulares K en cepas cérvico-vaginales de *Escherichia coli*.

### 5.2. Objetivos Particulares

- Estimar la frecuencia de *E. coli* en las infecciones cérvico-vaginales.
- Determinar la distribución de los antígenos K en un grupo de cepas vaginales de *E. coli*.
- Establecer la relación de la frecuencia de los antígenos K de *E. coli* con la edad de las pacientes estudiadas.



## **6 MATERIALES Y METODOS**

### **6.1. Obtención de muestras**

Se analizaron 200 cepas de *E. coli* cérvico-vaginales previamente aisladas de un grupo de 210 pacientes diagnosticadas con infecciones vaginales, atendidas en las Unidades de Medicina Familiar (UMF) del IMSS No. 62 y No. 64 del municipio de Tlalnepantla de Baz en el Estado de México. Las cepas se encontraban almacenadas en viales con BHI (caldo nutritivo de Infusión Cerebro Corazón) y glicerol en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la Clínica Universitaria de Salud Integral, CUSI-FES Iztacala.

### **6.2. Extracción de DNA**

La extracción de DNA se realizó por el método de ebullición descrito por Ooka *et al.*, 2009. A partir del medio de cultivo BHI con glicerol se realizaron resiembras en medio de cultivo agar nutritivo y se incubaron a 37°C por 24 hrs, posteriormente con un asa de siembra se tomaron de 3 a 4 colonias bacterianas y se depositaron en un tubo estéril de 16 X 150 mm con tapón de rosca con 2 mL de agua desionizada estéril. Las bacterias se suspendieron por agitación durante 20 seg. con ayuda de un Vórtex y se llevaron a Baño María (100 °C) durante 20 min, inmediatamente se colocaron en hielo (0 °C) por 10 min. Se tomaron 1.5 mL de la muestra y se depositaron en un tubo eppendorf estéril que se centrifugó a 12 000 rpm durante 10 min. El sobrenadante que contenía el DNA templado se transfirió a otro tubo eppendorf estéril, se etiquetó y se almacenó a -20°C hasta su utilización en la reacción de PCR.

### **6.3. Identificación de *E. coli* por PCR convencional**

Las cepas de *E. coli* se identificaron mediante PCR convencional por la amplificación del gen 16S rRNA (Li *et al*, 2010). Los oligonucleótidos utilizados fueron wl-3110 (AGAGTTTGATCMTGGCTCAG) y wl-3111 (CCGTCAATTCATTGAGTT). Para un volumen final de mezcla de reacción de 25 µl se utilizaron 12 µl del equipo comercial Taq DNA polimerase 2x Master Mix Red, 1 µL de cada oligonucleótido (forward y reverse; 10 pmol), 9 µL de agua libre de nucleasas y 2 µL de DNA (500ng). La amplificación se realizó en un termociclador bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a 95°C por 5 min seguido de 30 ciclos de 95°C por 30 s, una alineación a 55°C por 1 min y 72°C por 10 min y una extensión final a 72°C por 5 min. Se utilizó como control positivo la cepa de *E. coli* ATCC 11775. El tamaño del amplicón fue de 919 pb (pares de bases).

## 6.4. PCR convencional

Las condiciones de PCR y los oligonucleótidos para amplificar los genes que codifican para los diferentes antígenos capsulares (Tabla 1) fueron los descritos por Yang *et al.*, 2018.

Antígeno K	Secuencia Blanco	Primer (wl)	Primeros (5' > 3')	Amplícones (Núm. de pb)
<b>K2ab</b>	<i>tagB</i>	wl-71845 wl-71846	AAAGGGCGTTGGTGCCAG CGATATAGCTGTCCGCATATGCTA	270
<b>K11</b>	<i>tarQ</i>	wl-71846 wl-71844	CGGGTCAGTCAGTTGCCAGAAA TGCCCATGGTGCCGGTGTT	278
<b>K20</b>	<i>k20-09</i>	wl-71847 wl-71848	ATGATTCCACAAGACAAACTG TATCGACGGATGTTAGGACC	226
<b>K24</b>	<i>k24-12</i>	wl-71849 wl-71850	TTGTCGTGTGTTAGCCTTTAGC TGTGTTACTCCTCGAACGGA	237
<b>K30</b>	<i>wzy</i>	wl-71839 wl-71840	GACCAATTCGAGAGGAAGCA TGAATGTCCCTACCCTCTGG	230
<b>K38</b>	<i>wzy</i>	wl-71851 wl-71852	TTCTTTGCATCTGATACTATTT AGAGTTATCACCTCCCACAT	285
<b>K84</b>	<i>wzy</i>	wl-71853 wl-71854	AAGTGGCATTAAATGTTTGT GCGCACTCAGTATGTGACAT	243
<b>K92</b>	<i>neuA</i>	wl-71855 wl-71856	GTGACAACACTGACTCCGAAC GATATAACTTTACAGCCTCAATA	217
<b>K96</b>	<i>K96-09</i>	wl-71841 wl-71842	CGCGTGAACACTGCTCGGCTCT CCGACCGCACTGACGCTATC	238
<b>K102</b>	<i>wzy</i>	wl-71859 wl-71860	ACATTACCTCTAGGGACTGT TGAATGAGATCACTGTTTTTC	220

**Tabla 1.** Oligonucleótidos utilizados para identificar los antígenos K de *Escherichia coli* cérvico-vaginal por PCR

Para la amplificación por PCR convencional de cada uno de los antígenos capsulares de *E. coli* se preparó una mezcla de reacción con un volumen final de 12 µL: los componentes de la PCR fueron: 6.5 µL de Máster Mix (Taq polimerasa, buffer, MgCl<sub>2</sub>), 1 µL (10 pmol) de cada oligonucleótido (forward y reverse; Integrated DNA Technologies), 5 µL de agua libre de nucleasas y 3 µL de DNA bacteriano (500 ng). Las condiciones de PCR consistieron en una desnaturalización inicial a 95°C por 5 min; seguida por 40 ciclos de 94°C por 30 s, una alineación a 53°C por 30 s, y 72°C por 45 s; y una extensión final a 72°C por 10 min.

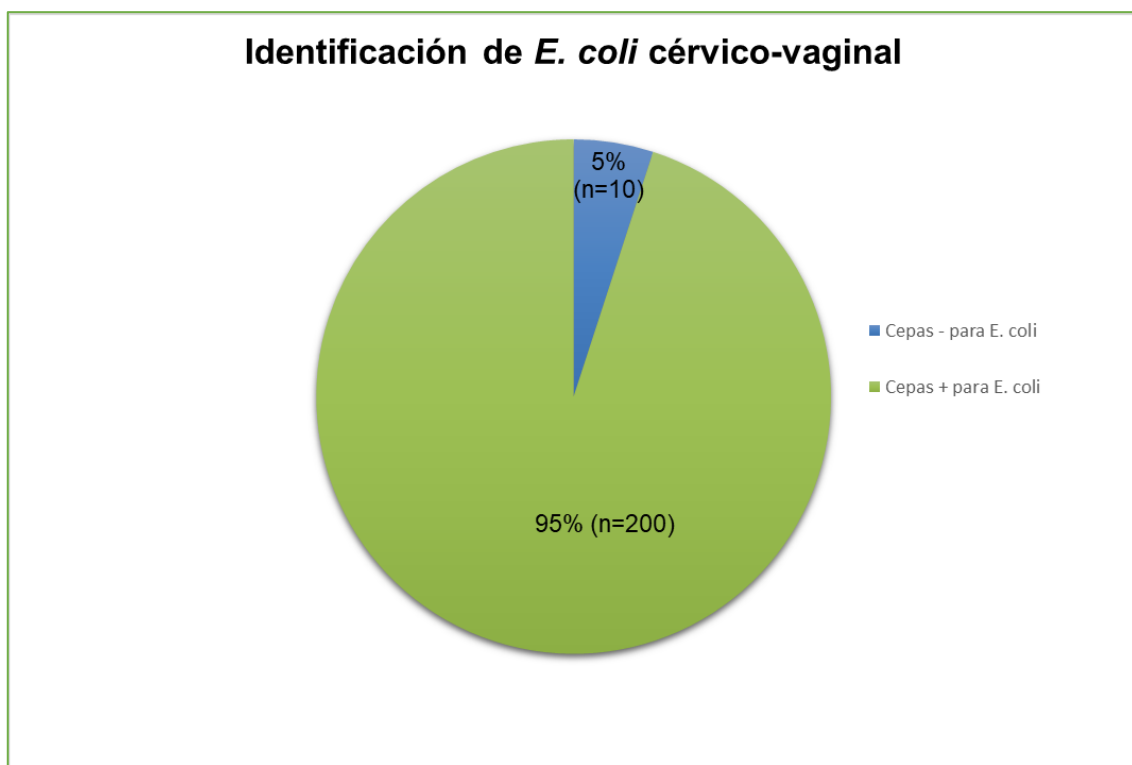
## **6.5. Electroforesis**

Los amplicones obtenidos de la PCR se visualizaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 2% con 0.3  $\mu\text{L}$  de Midori Green (Nipon Genetics). En el gel de agarosa se depositaron en cada carril 1.5  $\mu\text{L}$  de muestra, además del carril con 1  $\mu\text{L}$  del marcador de peso molecular (MPM) de 100 pb. Las condiciones de corrimiento fueron: 120 volts, 94 miliampers durante 30 min. Los geles se observaron bajo luz UV y se fotografiaron con el sistema GEL LOGIC 100 (KODAK).

## 7 RESULTADOS

### 7.1. Origen de las cepas de *E. coli*

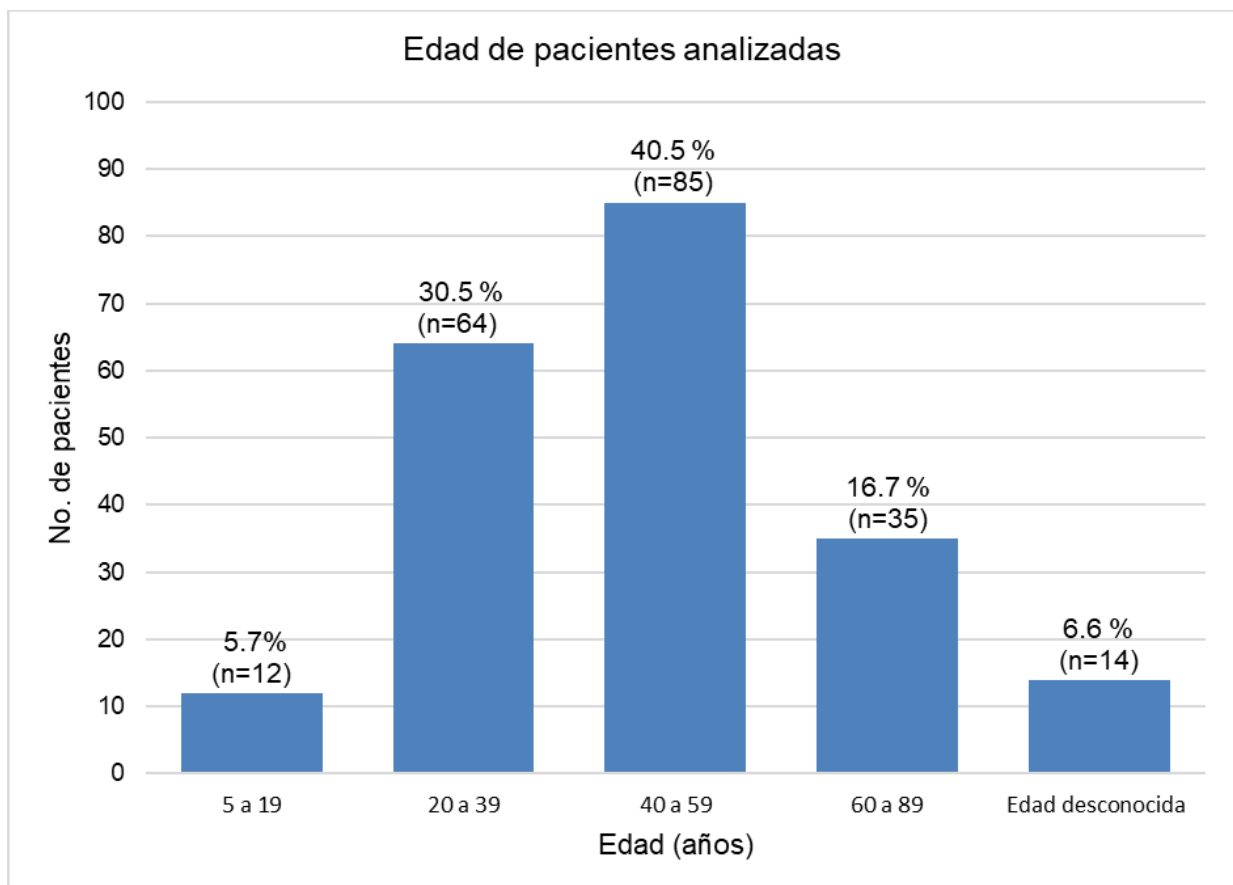
En este estudio se analizaron cepas aisladas de un grupo de 210 pacientes diagnosticadas con infecciones cérvico-vaginales de las clínicas oficiales N° 62 y N° 64 del IMSS pertenecientes al municipio de Tlalnepantla en el Estado de México. De las muestras tomadas el 95 % (n=200) dió positivo por PCR para cepas de *E. coli* (Fotografía 1), mientras que el 5% (n=10) resultó negativo para *E. coli*, (Figura 1).



**Figura 1.** Identificación de *Escherichia coli* en cepas provenientes de pacientes con infecciones cérvico-vaginal

## 7.2. Edad de pacientes analizadas

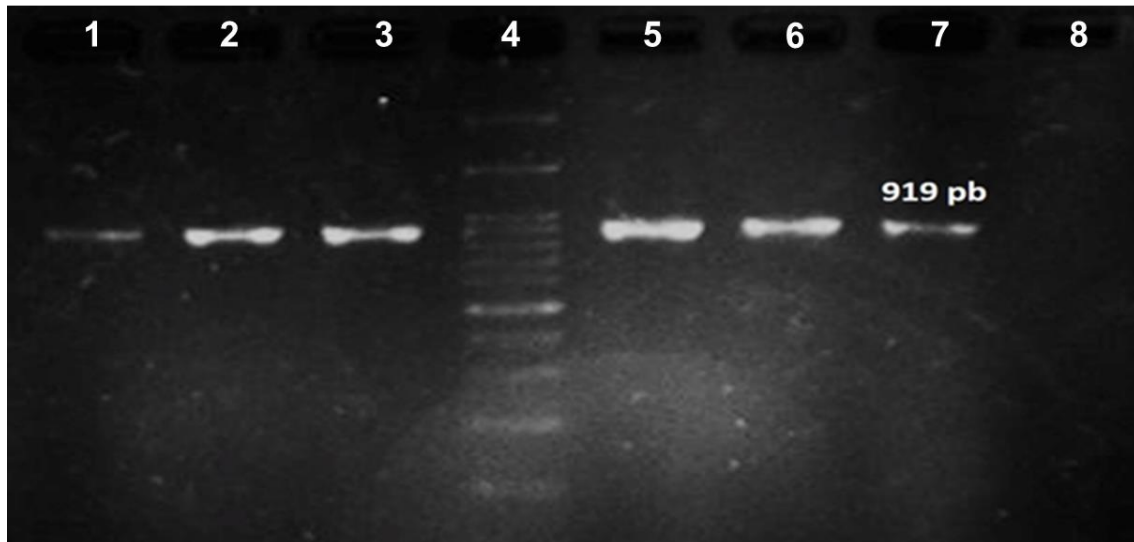
Las mujeres con infecciones cérvico-vaginales analizadas se encontraron en el rango de edad de 5 a 89 años (Figura 2). El 40.5% (n=85) de las mujeres se encontró en el intervalo de 40 a 59 años, seguida por el rango de 20 a 39 años con un 30.5% (n=64) y por el rango de 60 a 89 años con el 16.7% (n=35). El intervalo de edad menos frecuente fue el de 5 a 19 años con un 5.7% (n=12). El 6.6 % (n=14) de las pacientes no reportó su edad.



**Figura 2.** Distribución de pacientes con infección cérvico-vaginal por edad

### 7.3. Identificación de *E. coli* por PCR convencional

La identificación de las 200 cepas cérvico-vaginales se realizó mediante la amplificación del gen 16S rRNA (Fotografía 1). El tamaño del amplicón fue 919 pb.



**Fotografía 1.** Detección del gen 16S rRNA en las cepas vaginales de *E. coli*. Carril 1-3, 5 y 6: Cepas de *E. coli*. Carril 4: MWM (100 pb). Carril 7: Control positivo (cepa de *E. coli* ATCC 11775). Carril 8: Control negativo (sin DNA)

#### 7.4. Patologías y obesidad de las mujeres estudiadas

En la tabla 2 se aprecian los padecimientos presentados por las pacientes analizadas con infección cérvico-vaginal. El 53.3% (n=112) de las mujeres estudiadas no reportó alguna afección, mientras que el 46.7% (n=98) si reportó algún padecimiento. Las infecciones vaginales recurrentes fue el padecimiento más frecuente con el 22.8% (n=48), seguida de mujeres con hipertensión arterial con un 11.9% (n=25), mientras que los síndromes con un menor porcentaje fueron para la diabetes con el 8% (n=17), obesidad con un 3% (n=6) y por último mujeres con cáncer con solo el 1% (n=2) (Tabla 2).

Rango de edad (años)	Patologías 210 pacientes N°. (%)					Sin padecimiento
	Infecciones vaginales recurrentes	Hipertensión arterial	Diabetes	Obesidad	Cáncer	
5-19	2 (1)	0	0	2 (1)	0	112 (53.3)
20-39	14 (6.6)	1 (0.5)	0	1 (0.5)	1 (0.5)	
40-59	20 (9.5)	6 (2.9)	9 (4.2)	1 (0.5)	1 (0.5)	
60-89	12 (5.7)	18 (8.5)	8 (3.8)	2 (1)	0	
<b>Total</b>	48 (22.8)	25 (11.9)	17 (8)	6 (3)	2 (1)	

**Tabla 2.** Patologías en pacientes con infección cérvico-vaginal

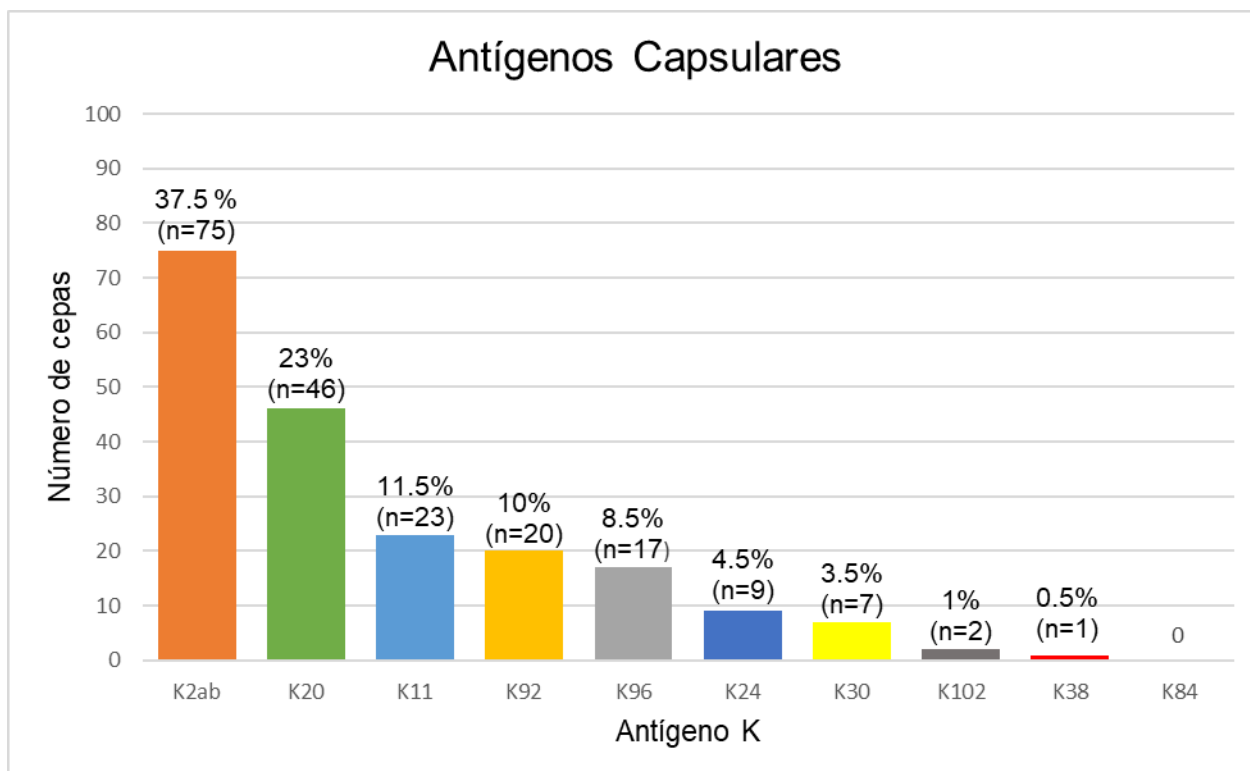


## 7.5. Distribución de antígenos capsulares en *E. coli*

En este estudio se buscó identificar 10 antígenos capsulares diferentes en 200 cepas de *E. coli*, y se encontró que el más abundante fue el antígeno K2ab con el 37.5% (n=75), seguido por el K20 con un 23% (n=46). Entre los menos frecuentes se encuentran el antígeno K102 con 1% (n=2) y K38 con solo el 0.5% (n=1), ambos representan solo el 1.5% de las cepas. El antígeno capsular K84 no estuvo presente en ninguna de las cepas (Tabla 3; Figura 4, Fotografía 2-10).

Antígeno K	N° de cepas	Porcentaje
K2ab	75	37.5
K20	46	23
K11	23	11.5
K92	20	10
K96	17	8.5
K24	9	4.5
K30	7	3.5
K102	2	1
K38	1	0.5
K84	0	0
Total	200	100

**Tabla 3.** Distribución de antígeno K en cepas cérvico-vaginales de *E. coli*



**Figura 4.** Distribución de antígeno K en cepas de *E. coli*

Los antígenos capsulares obtenidos se agruparon de acuerdo con la clasificación de Withfield & Roberts, 1999, (Tabla 4). El mayor porcentaje perteneció al grupo 2 (75%) y grupo 3 (20%), ambos dependientes del sistema de transportador ABC y los de menor presencia se encuentran en el grupo 1 (3.5%) y grupo 4 (1.5%), los cuales son dependientes del sistema Wzy.

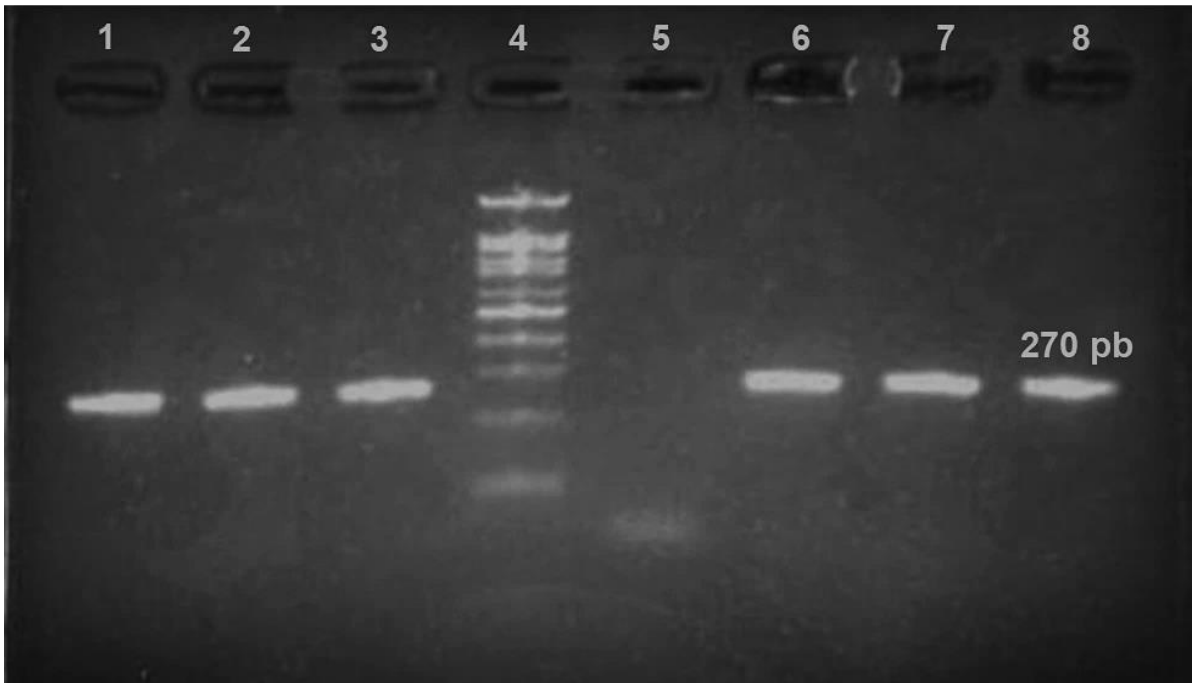
Grupo	Antígeno K	Porcentaje	Sistema de polimerización
1	K30	3.5	Dependiente de Wzy
4	K38, K102, K84	1.5	
2	K2ab, K20, K24, K92	75	Dependiente de transportador ABC
3	K11, K96	20	

**Tabla 4.** Distribución de antígenos K en la clasificación de polisacáridos capsulares

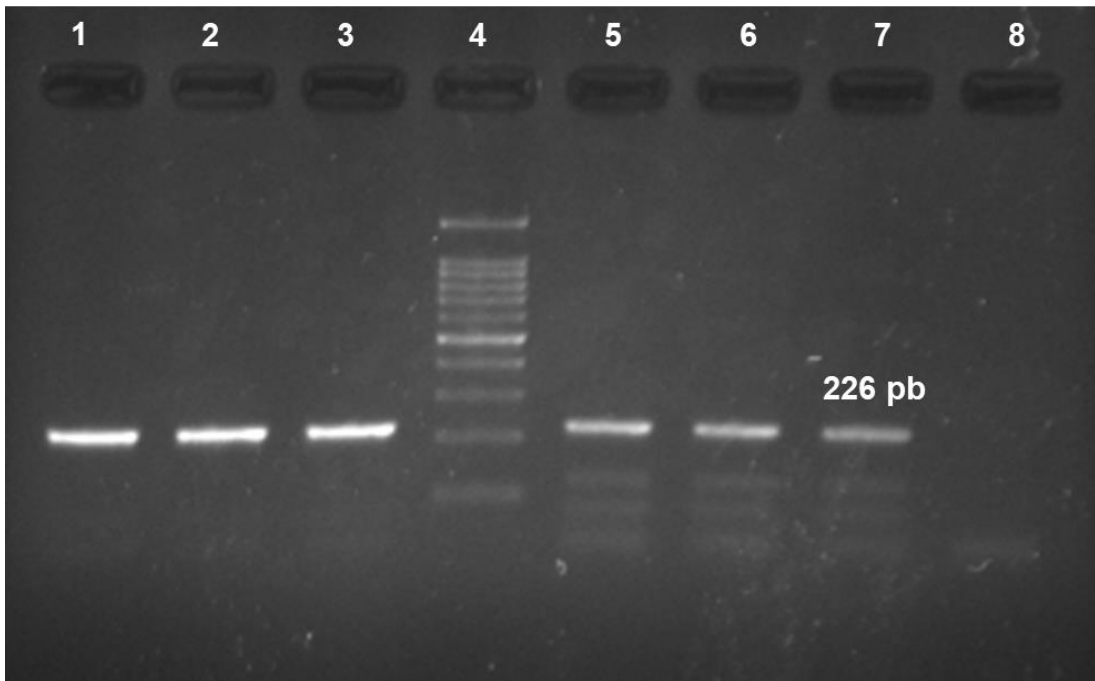
Al relacionar la frecuencia de los antígenos capsulares con la edad de las pacientes, se encontró que el antígeno K2ab fue el más frecuente en las cepas CVEC de las mujeres con rango de edad de 40 a 59 años con 16.5% (n=33), seguido de las mujeres con el rango de edad 20 a 39 años con un 12.5% (n=25), mientras que el antígeno K20 se encontró en el 9% (n=18) de las cepas de mujeres de 20 a 39, seguido de mujeres de 40 a 59 con un 8% (n=16). De manera global en el rango de edad de 20 a 39 años se identificaron 9 antígenos diferentes en las cepas CVEC, mientras que en el rango de 40 a 89 se identificaron 7 antígenos diferentes (Tabla 5).

Rango de edad (años)	Antígeno Capsular (K)									
	N = 200 N° (%)									
	K2ab	K20	K11	K92	K96	K24	K30	K102	K38	K84
5-19	1 (0.5)	1 (0.5)	0	2 (1)	0	1 (0.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	0	0
20-39	25 (12.5)	18 (9)	7 (3.5)	8 (4)	2 (1)	4 (2)	1 (0.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	0
40-59	33 (16.5)	16 (8)	12 (6)	7 (3.5)	9 (4.5)	2 (1)	3 (1.5)	0	0	0
60-89	12 (6)	8 (4)	4 (1.5)	2 (1.5)	6 (3)	2 (1)	2 (1)	0	0	0
Sin edad	4 (2)	3 (1.5)	0	1 (0.5)	0	0	0	0	0	0
<b>Total</b>	75 (37.5)	46 (23)	23 (11.5)	20 (10)	17 (8.5)	9 (4.5)	7 (3.5)	2 (1)	1 (0.5)	0

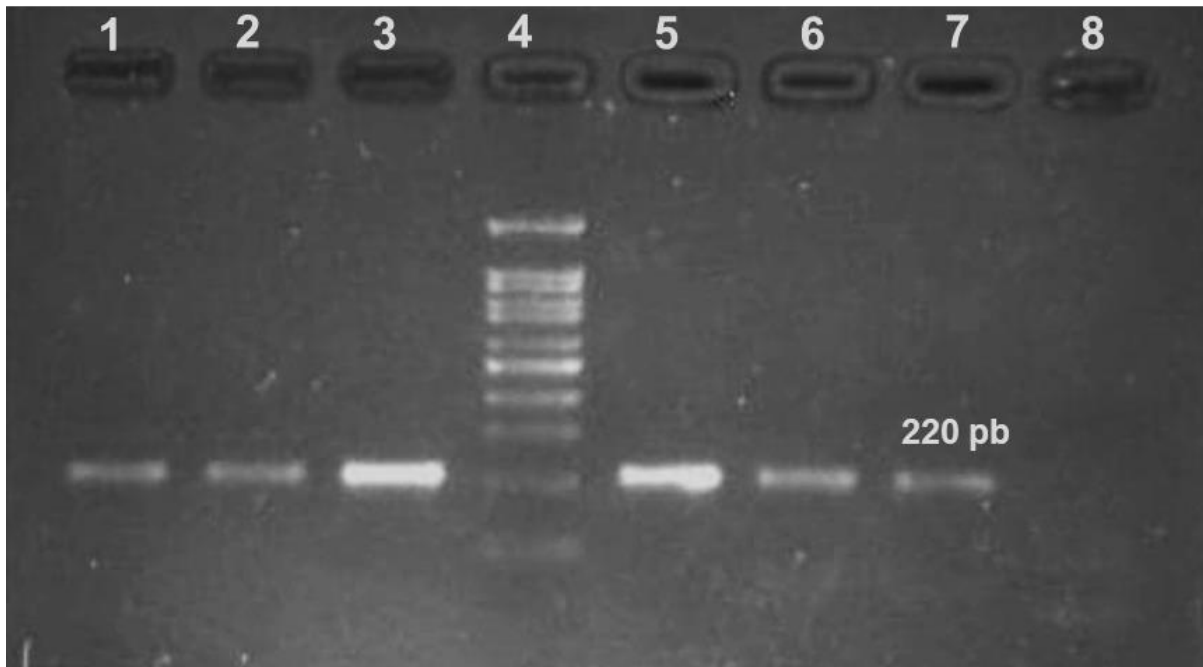
**Tabla 5.** Distribución de antígeno capsular K por edad en cepas cérvico-vaginales de *E. coli*



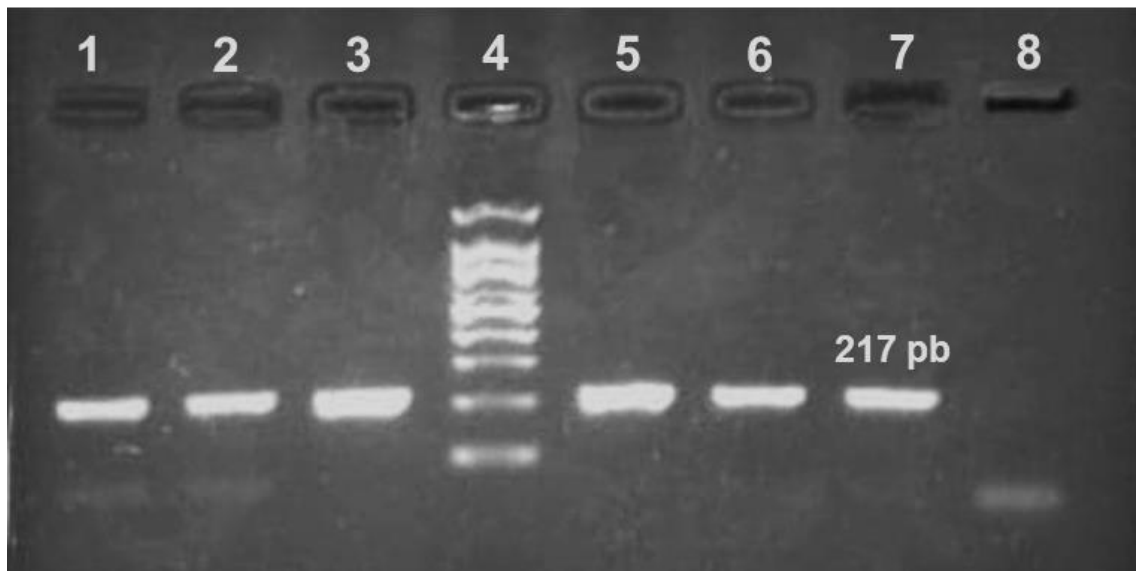
**Fotografía 2.** Detección del antígeno K2ab en las cepas de *E. coli*. Carriles 1-3, 6 y 7 Cepas positivas. Carril 4: MWM (100 pb). Carril 8: Control positivo (cepa de *E. coli* del cepario del Lab. Clínico, FES-I). Carril 5: Control negativo (sin DNA).



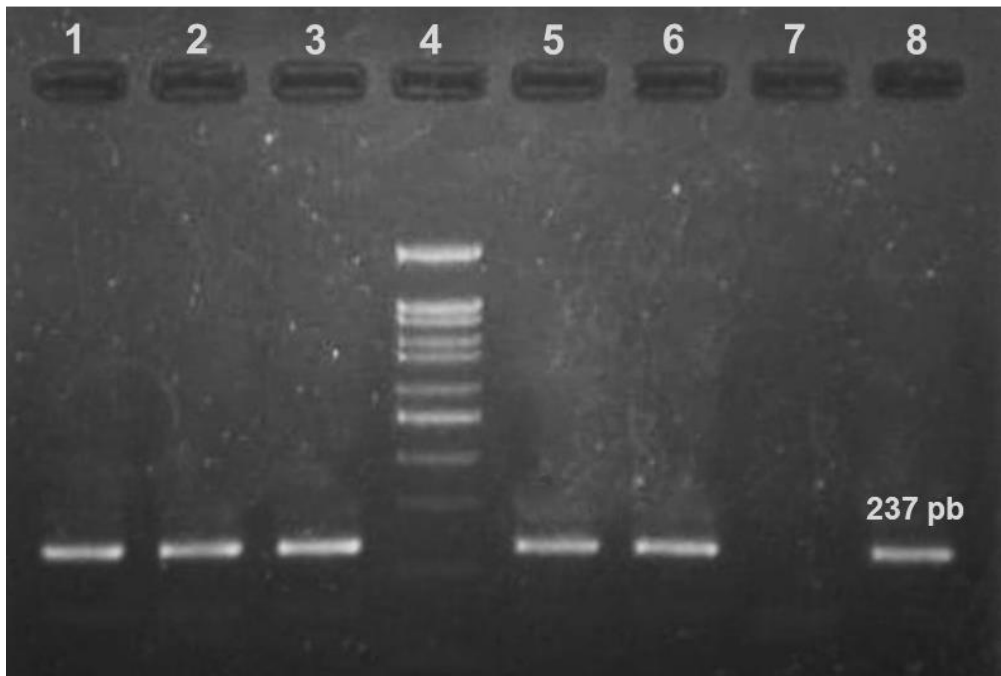
**Fotografía 3.** Detección del antígeno K20 en las cepas de *E. coli*. Carriles 1-3, 5 y 6: Cepas positivas. Carril 4: MWM (100 pb). Carril 7: Control positivo (cepa de *E. coli* del cepario del Lab. Clínico, FES-I). Carril 8: Control negativo (sin DNA).



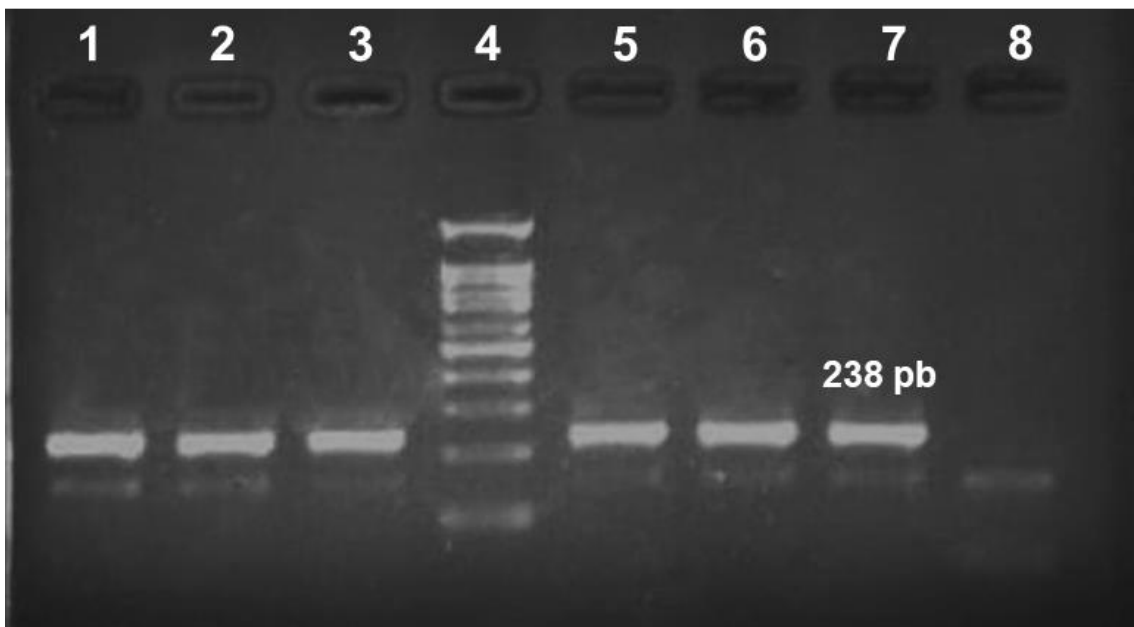
**Fotografía 4.** Detección del antígeno K102 en las cepas de *E. coli*. Carriles 1-3, 5 y 6: Cepas positivas. Carril 4: MWM (100 pb). Carril 7: Control positivo (cepa de *E. coli* del cepario del Lab. Clínico, FES-I). Carril 8: Control negativo (sin DNA).



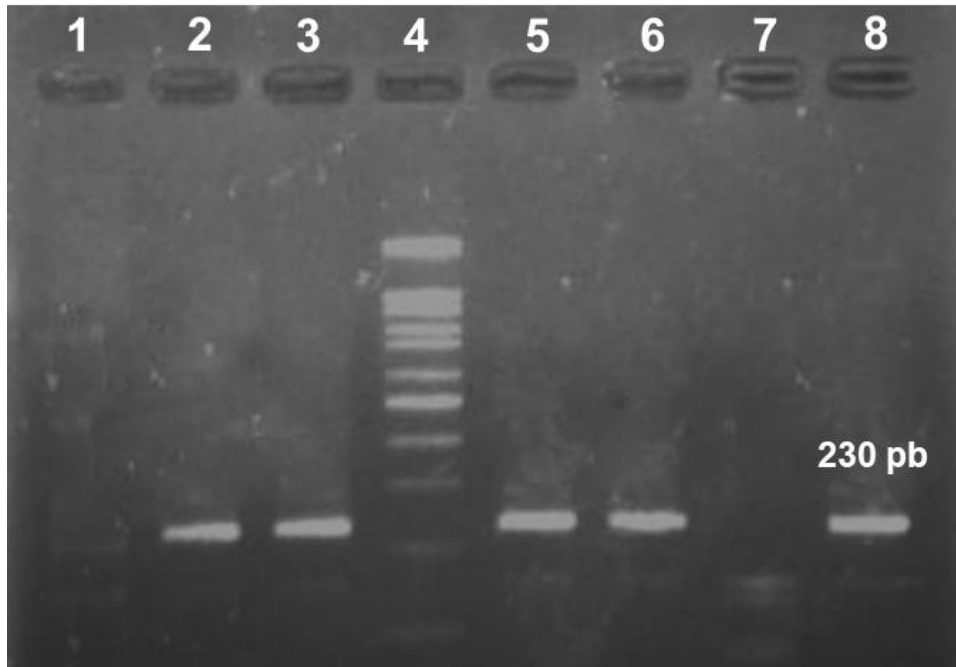
**Fotografía 5.** Detección de antígeno K92 en las cepas de *E. coli*. Carriles 1-3, 5 y 6: Cepas positivas. Carril 4: MWM (100 pb). Carril 7: Control positivo (cepa de *E. coli* del cepario del Lab. Clínico, FES-I). Carril 8: Control negativo (sin DNA).



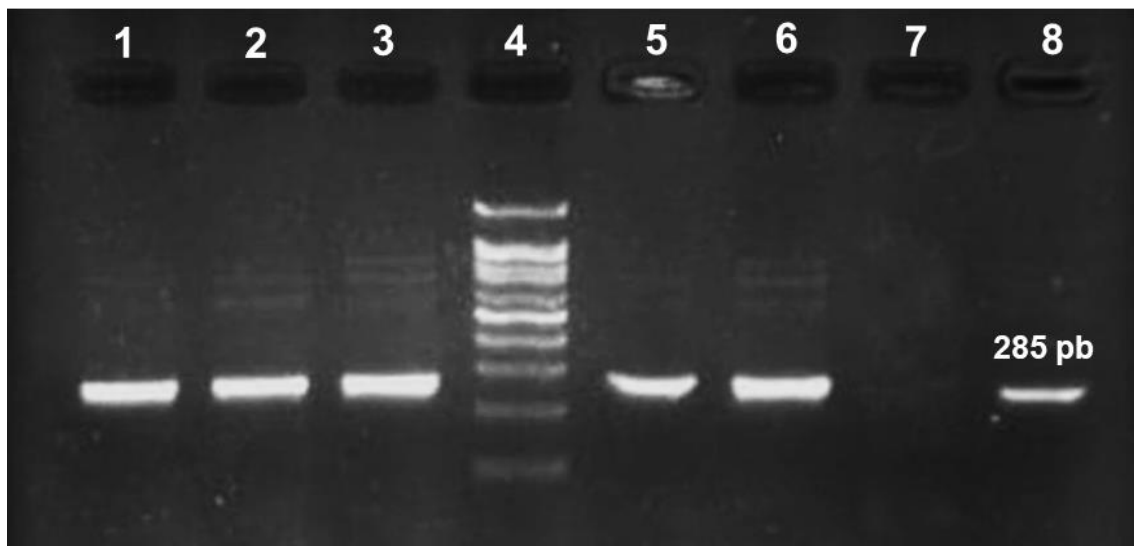
**Fotografía 6.** Detección de antígeno K24 en las cepas de *E. coli*. Carriles 1-3, 5 y 6: Cepas positivas. Carril 4: MWM (100 pb). Carril 7: Control negativo (sin DNA). Carril 8: Control positivo (cepa de *E. coli* del cepario del Lab. Clínico, FES-I).



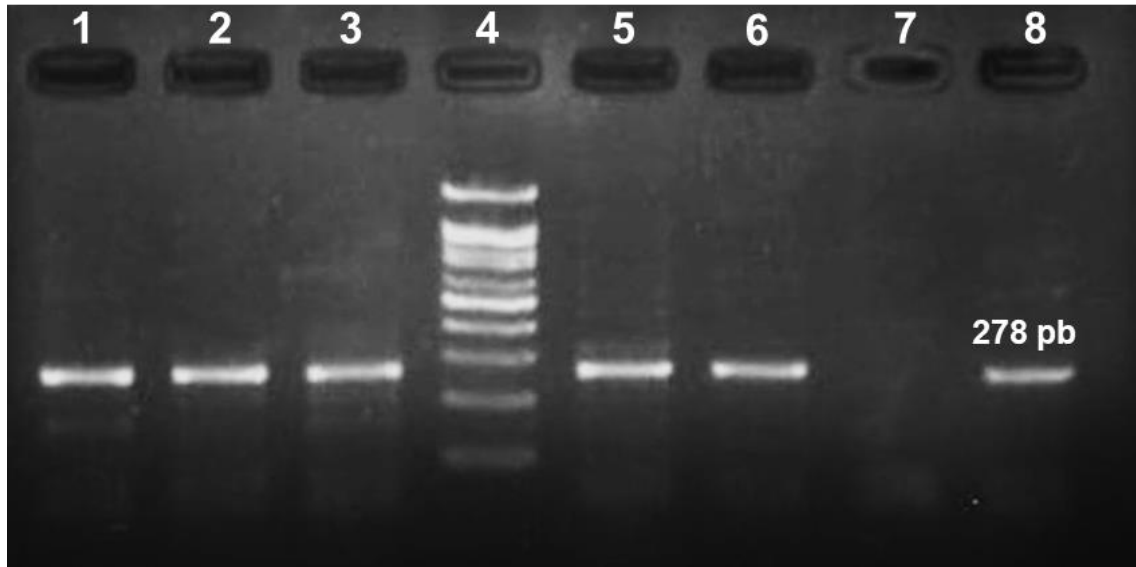
**Fotografía 7.** Detección de antígeno K96 en las cepas de *E. coli*. Carriles 1-3, 5 y 6: Cepas positivas. Carril 4: MWM (100 pb). Carril 7: Control Positivo (cepa de *E. coli* del cepario del Lab. Clínico, FES-I). Carril 8: Control negativo (sin DNA).



**Fotografía 8.** Detección de antígeno K30 en las cepas de *E. coli*. Carril 1: Cepa negativa. Carril 2-3, y 5-6: Cepas positivas. Carril 4: MWM (100 pb). Carril 7: Control negativo (sin DNA). Carril 8: Control positivo (cepa de *E. coli* del cepario del Lab. Clínico, FES-I).



**Fotografía 9.** Detección de antígeno k38 en las cepas de *E. coli*. Carril 1-3 y 5-6: cepas positivas. Carril 4: MWM (100 pb). Carril 7: Control negativo (sin DNA). Carril 8: Control positivo (cepa de *E. coli* del cepario del Lab. Clínico, FES-I).



**Fotografía 10.** Detección de antígeno K11 en las cepas de *E. coli*. Carril 1-3, y 5- 6: Cepas positivas. Carril 4: MWM (100 pb). Carril 7: Control negativo (sin DNA). Carril 8: Control positivo (cepa de *E. coli* del cepario del Lab. Clínico, FES-I).



## 8 DISCUSIÓN

### 8.1. Pacientes analizadas

En este trabajo se analizaron 200 cepas de *E. coli* aisladas e identificadas mediante amplificación del gen 16S rRNA por PCR (Fotografía 1), a partir de un grupo de pacientes con infección cérvico-vaginal de las unidades de medicina familiar N° 62 y N° 64 del IMSS. Se ha descrito que, en casos de vaginosis, *Gardnerella vaginalis* y *E. coli* son los microorganismos más comunes (Padilla *et al.*, 2007), mientras que, en la vaginitis aeróbica, *Escherichia coli* es uno de los microorganismos predominantes en las mujeres infectadas (González *et al.*, 2006). Es frecuente que en las infecciones cérvico-vaginales *Escherichia coli* se encuentre en asociaciones con otras bacterias (Padilla *et al.*, 2007).

Las infecciones cérvico-vaginales son una de las principales causas de consulta en las clínicas de atención médica, donde la colonización de bacterias se ve favorecida por las alteraciones en la microbiota normal de la vagina que está compuesta por una mezcla de bacterias que incluyen bacterias Grampositivas y Gramnegativas, como *E. coli* (González-Pedraza *et al.*, 2007; Martínez-Martínez, 2013; Kim & Park, 2017).

## **8.2. Edad de las pacientes en las infecciones vaginales por *Escherichia coli***

La microbiota vaginal constituye una de las barreras fisiológicas más importantes y su equilibrio depende de un gran número de variables como son la edad, las hormonas y los hábitos de cada mujer. En este estudio se encontró que la mayor frecuencia de mujeres con infección cérvico-vaginal se situó en el rango de edad de 40 a 59 años con un 40.5% (n=85; Figura 2). Este hallazgo puede deberse a que *E. coli* podría verse favorecida por los cambios posmenopáusicos que incluyen el cese de la producción de estrógenos, el aumento del pH vaginal y la desaparición de los lactobacilos (Kim *et al.*, 2018). Este resultado coincide con lo descrito por González-Pedraza *et al.*, (2007), quienes encontraron que la mayor frecuencia de *E. coli* se encontró en mujeres con una edad promedio de 55 años.

Con respecto a la frecuencia de mujeres infectadas en edad reproductiva de 20 a 39 (30.5%; Figura 2) encontrada en este estudio, puede deberse al uso de dispositivos intrauterinos y de duchas vaginales, a la actividad sexual, al embarazo y a tratamientos hormonales (Alemán-Mondeja, 2010). De acuerdo con Motayo y colaboradores (2012) las mujeres embarazadas especialmente en el último trimestre son más propensas a desarrollar diferentes tipos de infecciones extraintestinales por *E. coli*, con relación al grupo de mujeres con edad por arriba de 60 años, que podría ocasionar otros tipos de afecciones, como inflamación pélvica, infecciones de vías urinarias o endometriosis (Kim & Park, 2017).

Con respecto a las mujeres infectadas por *E. coli* con edad menor a 19 años (5.7%; Figura 2), puede deberse a las características anatómicas que las hacen más vulnerables, como la ausencia del vello púbico, los labios vulvares pequeños y la mala higiene que facilita la contaminación del medio vaginal, así como una vida sexual activa en adolescentes. Varona-Sánchez y colaboradores (2010) encontraron que *Escherichia coli* es uno de los principales causantes entéricos de vulvovaginitis en niñas.

### **8.3. Patología presente en la infección cérvico-vaginal**

En este estudio se encontró que el 53.3% (n=112; Tabla 2) de las mujeres con infecciones cérvico-vaginales no declaró patología alguna, mientras que el 46.6% (n=98) presentó padecimientos como infecciones vaginales recurrentes, hipertensión arterial, diabetes, obesidad y/o cáncer. Estos resultados coinciden con el 40% (n=66) previamente descrito en un estudio realizado por 12 meses a mujeres con vaginosis bacteriana tratadas con metronidazol, donde los padecimientos menos frecuentes fueron la hipertensión, diabetes, obesidad y cáncer (Bradshaw *et al.*, 2006)

Las infecciones vaginales recurrentes pueden ser resultado de varios mecanismos de reinfección a través de actividad sexual, falta de restablecimiento de la flora normal dominante de lactobacilos o persistencia de biopelícula vaginal, al existir una reincidencia se provoca la alteración de la microbiota vaginal favoreciendo la colonización de anaerobios y bacilos Gram negativos (Nyirsjesy, 2014).

### **8.4. Antígeno Capsular**

El polisacárido capsular (CPSs) de *E. coli*, llamado Antígeno K, es una estructura que envuelve la superficie de la bacteria y está compuesta por monosacáridos, glicosiltransferasa (GT), y unidades de oligosacáridos de alto peso molecular (Boulnois & Jann, 1989), que le brinda a la bacteria la capacidad de evadir la respuesta inmune del hospedero.

En este estudio se estableció que el 95% (n=190) de las cepas cérvico-vaginales analizadas (n= 200) se distribuyeron dentro de los antígenos K2ab, K20, K24, K92, K11 y K96 (Tabla 3 y Figura 4), que realizan un ensamblaje dependiente del transportador ABC (*ATP Binding Cassettes*), mientras que el 5% (n= 10) restante se distribuyó dentro de los antígenos K30, K38, K102 y K84 dependientes del mecanismo de biosíntesis y ensamblaje Wzy (proteína de membrana integral necesaria para la polimerización de unidades repetidas del antígeno). Estos sistemas de polimerización se han relacionado con diferentes infecciones, por ejemplo: el sistema dependiente

de Wzy se encuentra en cepas de *E. coli* enteropatógenas, enterotoxigénicas y enterohemorrágicas (EPEC, ETEC y EHEC) que ocasionan infecciones gastrointestinales, mientras que las dependientes de transportador ABC (proteínas integrales de membrana altamente conservadas, especializadas en el transporte activo de sustancias), se encuentran en cepas extraintestinales (Whitfield, 2006). La elevada frecuencia de cepas vaginales de *E. coli* perteneciente al transportador ABC puede ser fácilmente explicado, debido a que las cepas cérvico-vaginales son consideradas extraintestinales. También es importante destacar que el antígeno K84 no se encontró en ninguna de las cepas estudiadas, lo que podría deberse probablemente a que este antígeno capsular es muy poco frecuente entre las cepas cérvico-vaginales.

Los antígenos capsulares de *E. coli* expresados en su superficie se clasifican también con base en criterios genéticos y bioquímicos en 4 grupos (1, 2, 3 y 4) (Whitfield & Roberts, 1999). En este estudio se encontraron cepas que pertenecieron a cada uno de los cuatro grupos (Tabla 4). Las cepas pertenecientes a los grupos 1 (K30) y 4 (K38, K102 y K84) identificadas en este estudio comparten mecanismos de biosíntesis y ensamblaje estrechamente relacionados y que usan una vía dependiente de Wzy (Tabla 4), mientras que las cepas distribuidas dentro de los grupos 2 (K2ab, K20, K24 y K92) y 3 (K11 y K96) comparten ensamblaje dependiente del transportador ABC (ATP Binding Cassettes).

Recientemente Yang y colaboradores (2018) identificaron 10 antígenos capsulares (K2ab, K11, K20, K24, K30, K38, K84, K92, K96, y K102) en cepas de *E. coli*, dentro de los cuales la mayor frecuencia la presentaron los antígenos dependientes del transportador ABC (Whitfield & Roberts, 1999). Los antígenos capsulares pueden tener diversas funciones, Opal y colaboradores (1982) demostraron que el antígeno K1 de *Escherichia coli* muestra una resistencia ante el suero humano normal mientras que el antígeno K27 no mostró esta resistencia, demostrando que este antígeno y quizás otros antígenos K no proporcionen el efecto protector (Leslie *et al.*, 1998). Navasa-Mayo (2009) encontró que *E. coli* K92 expresa una cápsula que le confiere una barrera de protección frente a los daños causados por el estrés osmótico, oxidativo y resistencia ante la ampicilina. También se ha demostrado que la cápsula del grupo 2 secretada por *E. coli* uropatógena (UPEC) participa en la adhesión

bacteriana y evita la formación de biopelículas por bacterias Grampositivas y Gramnegativas (Valle *et al.*, 2006).

En este estudio se analizó la presencia de 10 antígenos K, donde el más frecuente fue el K2ab, seguido por K20, K11, K92 y K96 (Tabla 4), sin embargo se ha descrito que *Escherichia coli* posee 80 serotipos capsulares, que protegen a la bacteria de la respuesta inmune temprana (fagocitosis y la muerte mediada por el complemento), además se han encontrado similitudes entre cápsulas de *E. coli* con otras bacterias, tal es el caso de los antígenos capsulares del Grupo 1 que tienen una estructura similar a *Klebsiella pneumoniae* y de los antígenos del grupo 2 y 3, que tienen un ensamblaje y estructura similar a las cápsulas de *Neisseria meningitidis* y *Haemophilus influenzae*.

## 9 CONCLUSIONES

1. En este estudio se demostró que *Escherichia coli* es el principal patógeno responsable de las infecciones cérvico-vaginales.
2. La mayor frecuencia de las infecciones cérvico-vaginales ocasionada por *Escherichia coli* se encontró en mujeres entre 40 a 59 años.
3. Los antígenos capsulares más frecuentes en las cepas de *E. coli* fueron K2ab, K20, K11, K92 y K96.
4. Los resultados de este estudio evidenciaron la elevada distribución del antígeno K del grupo 1 y 2 dependientes del mecanismo de biosíntesis y ensamblaje del transportador ABC en *E. coli* vaginal.
5. Este es el primer estudio realizado en México sobre los antígenos K en cepas vaginales de *E. coli*, lo que pone de manifiesto la virulencia que poseen estas bacterias, por la gran protección que les confiere la cápsula como antifagocitaria, además de impedir la efectividad de los antibióticos.

## 10 LITERATURA CITADA

- Alemán-Mondeja LD, Almanza-Martínez C, Fernández-Lima O. 2010. Diagnóstico y prevalencia de infecciones vaginales. *Rev Cubana Obstet Ginecol.* 36(2): 62-103.
- Ali ASM, Mowbray C, Lanz M, Stanton A, Bowen S, Varley CL, Hilton P, Brown K, Robson W, Southgate J, Aldridge PD, Tyson-Capper A, Abraham S, Pickard RS, Hall J. 2017. Targetting deficiencies in the TLR5 mediated vaginal response to treat female recurrent urinary tract infection. *Sci Rep.* 7(1):11039.
- Almirante-Gragera, B. 2002. Infecciones por enterobacterias. *Medicine.* 8(64): 3385-3397.
- Andreu A. 2005. Patogenia de las infecciones del tracto urinario. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 23(4):15-21.
- Bradshaw CS, Morton AN, Hocking J, Garland SM, Morris MB, Moss LM, Hovarth LB, Kuzevska I, Fairley CK. 2006. High recurrence rates of bacterial vaginosis over the course of 12 months after oral metronidazole therapy and factors associated with recurrence. *J Infect Dis.* 193(11): 1478-86.
- Brooks G, Pinto J & Ruiz A. 2014. *Jawetz, Melnick y Adelberg: microbiología médica.* México Bogotá: McGraw-Hill Interamericana Editores. Capítulo 15: Bacilos Gram negativos entéricos. pp. 229-233.
- Boulnois JG, Jann K. 1989. Bacterial polysaccharide capsule synthesis, export and evolution of structural diversity. *Mol Microbiol.* 3(12): 1819-23.
- Cabello, R. 2007. *Microbiología y parasitología humana: bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias.* Bacteriología. México: Médica Panamericana. pp. 428-441.
- Cárdenas-Perea, ME, OR, Cruz y López., JA, Pérez-Hernández. 2014. Factores de virulencia bacteriana: la "inteligencia" de las bacterias. *Elementos* 94. pp.35-43.
- Castillo-Rueda A, Khosravi-Shahi P. 2010. The role of flagellin in the interaction between host and pathogen. *Med Clin (Barc).* 134(10): 452-6.

- Cook SW, Hammil HA, Hull RA. 2001. Virulence factors of *Escherichia coli* isolated from female reproductive tract infections and neonatal sepsis. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 9(4):203-7.
- Egan ME, Lipsky MS. 2000. Diagnosis of vaginitis. *Am Fam Physician.* 62(5): 1095-104.
- Ewers C, Li G, Wilking H, Kiessling S, Alt K, Antão EM, Laturus C, Diehl I, Glodde S, Homeier T, Böhnke U, Steinrück H, Philipp HC, Wieler LH. 2007. Avian pathogenic, uropathogenic and newborn meningitis-causing *Escherichia coli*: How closely related are they? *Int J Med Microbiol.* 297(3): 163-76.
- Garza-Velasco R, Ávalos-González J, Ugalde-Matehuala SM, López-López M. 2000. Principales factores bacterianos que promueven la colonización e invasión de los tejidos humanos. *Educación química.* 11(2).
- González C, Moreno MA, Nieves B, Flores A, Chille A, Carrero S, Rangel AE. 2006. Flora vaginal en pacientes que asisten a consulta ginecológica. *Rev Soc Ven Microbiol.* 26(1): 19-26.
- González-Pedraza AA, Ortiz-Zaragoza C, Dávila-Mendoza R & Valencia-Gómez CM. 2007. Infecciones cervicovaginales más frecuentes: prevalencia y factores de riesgo. *Rev. Cubana de Obstet. Ginecol.* 33(2).
- Hebelka M, Lincoln K, Sandberg T. 1993. Sexual acquisition of acute pyelonephritis in a man. *Scand J Infect Dis.* 25(1):141-3.
- Janda J. 2006. *The enterobacteria. Escherichia coli.* Washington, D.C: ASM Press. pp. 23-49.
- Johnson JR, Russo TA. 2002. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: "the other bad *E coli*". *J Lab Clin Med.* 139(3): 155-62.
- Kaczmarek A, Budzyńska A, Gospodarek E. 2014. Detection of K1 antigen of *Escherichia coli* rods isolated from pregnant women and neonates. *Folia Microbiol (Praha).* 59(5): 419-22.
- Kaijser B, Jodal U. 1984. *Escherichia coli* K5 antigen in relation to various infections and in healthy individuals. *J Clin Microbiol.* 19(2): 264-6.
- Kaper JM. 2005. Pathogenic *Escherichia coli*. *Int J Med Microbiol.* 295(6-7): 355-6.



- Kim JM, Park YJ. 2017. Probiotics in the prevention and treatment of postmenopausal vaginal infections: Review article. *J Menopausal Med.* 23(3): 139-145.
- Kim YA, Lee K, Chung JE. 2018. Risk factors and molecular features of sequence type (ST) 131 extended-Spectrum-  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* in community-onset female genital tract infections. *BMC Infect Dis.* 18(1): 250.
- Krohn MA, Thwin SS, Rabe LK, Brown Z, Hillier SL. 1997. Vaginal colonization by *Escherichia coli* as a risk factor for very low birth weight delivery and other perinatal complications. *J Infect Dis.* 175(3): 606-10.
- Li D, Liu B, Chen M, Guo D, Guo X, Liu F, Feng L, Wang L. 2010. A multiplex PCR method to detect 14 *Escherichia coli* serogroups associated with urinary tract infections. *J Microbiol Methods.* 82(1): 71-77.
- Leslie MR, Parolis H, Parolis LA, Petersen BO. 1998. The capsular antigen of *Escherichia coli* O9:K33:H: a polysaccharide containing both pyruvate and O-acetyl groups. *Carbohydr Res.* 309(1): 95-101.
- López-Banda DA, Carrillo-Casas EM, Leyva-Leyva M, Orozco-Hoyuela G, Manjarrez-Hernández ÁH, Arroyo-Escalante S, Moncada-Barrón D, Villanueva-Recillas S, Xicohtencatl-Cortes J, Hernández-Castro R. 2014. Identification of virulence factors genes in *Escherichia coli* isolates from women with urinary tract infection in México. *Biomed Res Int.* 959206.
- Manjarrez-Hernández A. 2012. *Escherichia coli* uropatógena, una bacteria peligrosa. Boletín UNAM-DGCS-43. Disponible en: [http://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2012\\_443.html](http://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2012_443.html)
- Martínez-Martínez W. 2013. Actualización sobre vaginosis bacteriana. *Rev Cubana Obstet Ginecol.* 39(4): 427-441.
- Momtaz H, Karimian A, Madani M, Safarpour-Dehkordi F, 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(8).
- Mora-Rillo M. 2013. Relevancia de los factores de virulencia de *Escherichia coli* en el desarrollo de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica y mortalidad en

- pacientes con bacteremia por *E. coli*. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Madrid.
- Motayo BO, Ogiogwa IJ, Okerentugba PO, Innocent-Adiele HC, Nwanze JC, Onoh CC, Okonko IO. 2012. Antimicrobial resistance profile of extra-intestinal *Escherichia coli* infections in a South Western Nigerian City. *J Microbiol Res.* 2(5): 141-144.
- Nataro JP, Kaper JB. 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev.* 11(1): 142-201.
- Navasa-Mayo, N. 2009. Polímeros capsulares bacterianos en *E. coli* K92: ácido colánico y ácido polisialico. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.
- Nyirsjesy P. 2014. Manejo de vaginitis persistenten. *Obstet Ginecol.* 124: 1135-46.
- Obata-Yasuoka M, Ba-Thein W, Tsukamoto T, Yoshikawa H, Hayashi H. 2002. *Vaginal Escherichia coli* share common virulence factors profiles, serotypes and phylogeny with other *extraintestinal E. coli*. *Microbiology.* 148(Pt 9): 2745-52.
- Ooka T, Terajima, Kusumoto J, Iguchi M, Kurokawa A. Ogura K, Y, Asadulghani, M., Nakayama, K., Murase, K., Ohnishi, M., Iyoda, S., Watanabe, H & Hayashi, T. 2009. Development of a multiplex PCR-based rapid typing method for enterohemorrhagic *Escherichia coli* 0157 strains. *J Clin Microbiol.* 47: 2888-2894.
- Opal S, Cross A, Gemski P. 1982. K antigen and serum sensitivity of rough *Escherichia coli*. *Infect Immun.* 37(3): 956-60.
- Ørskov F, Ørskov I. 1992. *Escherichia coli* serotyping and disease in man and animals. *Can J Microbiol.* 38(7): 699-704.
- Padilla EC, Lobos GO, Padilla ER, Fuentes VL, Núñez FL. 2007. Aislamientos de cepas de *Escherichia coli* desde casos clínicos de infección vaginal: asociación con otros microorganismos y susceptibilidad antibacteriana. *Rev Chil Obstet Ginecol.* 72(4):222-228.
- Percival-Smith R, Bartlett KH, Chow AW. 1983. Vaginal colonization of *Escherichia coli* and its relation to contraceptive methods. *Contraception.* 27(5); 497-504.

- Perea EJ. 2010. Infecciones del aparato genital femenino: vaginitis, vaginosis y cervicitis. *Medicine*. 10(57): 3910-4.
- Radouani Ma, Kabiri M, Mustapha M, A EH, Barkat A. 2014. Epidemiological Study of Neonatal Bacterial Meningitis: Moroccan Data. *J Infect Dis Ther*. 2: 2–5.
- Rashki A. 2014. Cervico-vaginopathogenic *Escherichia coli* in Iran: Serogroup distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties. *Microb Pathog*. 75: 29-34.
- Raz, S. & Rodríguez, V.L. 2008. *Female urology*. Philadelphia: Elsevier Saunders.
- Rodríguez-Ángeles G. 2002. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud Pública de Méx*. 44(5):464-475.
- Ronnie H. 2015. Etymologia: *Escherichia coli*. *Emerg Infect Dis*. 21(8):1310. [Julio 2019]. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2108.ET2108>
- Rostand KS, Esko JD. 1997. Microbial adherence to and invasión through proteoglycans. *Infect Immun*. 65(1): 1-8.
- Russo TA & Johnson JR. 2000. Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of *Escherichia coli*: ExPEC. *J Infect Dis*. 181(5): 1753-4.
- Silver RP, Aaronson W & Vaan WF. 1988. The K1 capsular polysaccharide of *Escherichia coli*. *Rev. Infect. Dis.(Suppl.)*: S282–S286.
- Soto SM. 2006. Expresión de factores de virulencia en cepas extraintestinales de *Escherichia coli*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 24(8): 479-80.
- Tortora G, Funke B & Case C. 2007. *Introducción a la microbiología*. Buenos Aires: Médica Panamericana.
- Valle J, Da Re S, Henry N, Fontaine T, Balestrino D, Latour-Lambert P, Ghigo JM. 2006. Broad-spectrum biofilm inhibition by a secreted bacterial polysaccharide. *Proc Natl Acad Sci USA*. 103(33): 12558-63.
- Varona-Sánchez JA, Almiñana-González MC, Borrego-López JA, Formoso-Martín LE. 2010. Vulvovaginitis en niñas y adolescentes. *Rev Cubana Obstet Ginecol*. 36(1): 73-85.
- Vidal-Graniel JE. 2003. *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC): Una causa frecuente de diarrea infantil. *Salud en Tabasco*. 9(1): 188-193.
- Watt S, Lanotte P, Mereghetti L, Moulin-Schouleur M, Picard B, Quentin R. 2003. *Escherichia coli* strains from pregnant women and neonates: Intraspecies

- genetic distribution and prevalence of virulence factors. *J Clin Microbiol.* 41(5):1929–35.
- Winn, W. & Koneman, E. 2008. *Koneman diagnóstico microbiológico: texto y atlas en color*. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana.
- Whitfield C, Roberts IS. 1999. Structure, assembly and regulation of expresión of capsules in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol.* 31(5): 1307-19.
- Whitfield C. 2006. Biosynthesis and assembly of capsular polysaccharides in *Escherichia coli*. *Annu Rev Biochem.* 75: 39-68.
- Yang S, Xi D, Jing F, Kong D, Wu J, Feng L, Cao B, Wang L. 2018. Genetic diversity of K-antigen clusters os *Escherichia coli* and their molecular typing using a suspensión array. *Can J Microbiol.* 64(4): 231-241.
- 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 Jiangsu province (China). *Urology.* 74(3): 702-7.