



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América
Dirección General de Estudios de Posgrado
Facultad de Medicina
Unidad de Posgrado

**Comparación de grupos filogenéticos y genes de
resistencia a betalactámicos de *Escherichia coli* entre
aislamientos de muestras clínicas y colonizantes
intestinales**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Epidemiología

AUTOR

Jose Fernando MATTA CHUQUISAPON

ASESOR

Dr. Heli Jaime BARRÓN PASTOR

Lima, Perú

2023



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Matta J. Comparación de grupos filogenéticos y genes de resistencia a betalactámicos de *Escherichia coli* entre aislamientos de muestras clínicas y colonizantes intestinales [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Unidad de Posgrado; 2023.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Jose Fernando Matta Chuquisapon
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	71957093
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-5132-4839
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Heli Jaime Barrón Pastor
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	09793154
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-4041-4406
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Julia Rosa Piscoya Sara
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07215466
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Martin Javier Alfredo Yagui Moscoso
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	06723405
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Pedro Gustavo Valencia Vásquez
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	08003003
Datos de investigación	

Línea de investigación	B.1.4.4. Enfermedades prevalentes (Tuberculosis, IRAs, Cólera, etc)
Grupo de investigación	Grupo de Investigación y docencia en medicina molecular – MEDMOL Grupo de investigación en Resistencia a los Antimicrobianos - MICRESIS
Agencia de financiamiento	Universidad Nacional Mayor de San Marcos (RR N° 01686 R 20 - código de proyecto A20011381)
Ubicación geográfica de la investigación	Jirón José Santos Chocano 199, Bellavista 07006 – Laboratorio de Epidemiología Molecular – LEMYG – Centro de Investigaciones Tecnológicas Biomédicas y Medioambientales – CITBM - UNMSM
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2020-2022
URL de disciplinas OCDE	Epidemiología https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.03.09 Biología celular, Microbiología https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.01



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América



FACULTAD DE MEDICINA

Vicedecanato de Investigación y Postgrado
Sección Maestría

ACTA DE GRADO DE MAGÍSTER

En la ciudad de Lima, a los 28 días del mes de abril del año dos mil veintitrés siendo las 11:00 am, bajo la presidencia de la Dra. Julia Rosa Piscocoya Sara, con la asistencia de los Profesores: Mg. Martin Javier Alfredo Yagui Moscoso (Miembro), Mg. Pedro Gustavo Valencia Vásquez (Miembro), y el Dr. Heli Jaime Barrón Pastor (Asesor); el postulante al Grado de Magíster en Epidemiología, Bachiller en Tecnología Médica, procedió a hacer la exposición y defensa pública de su tesis Titulada: **“COMPARACIÓN DE GRUPOS FILOGENÉTICOS Y GENES DE RESISTENCIA A BETALACTÁMICOS DE Escherichia coli ENTRE AISLAMIENTOS DE MUESTRAS CLÍNICAS Y COLONIZANTES INTESTINALES”**, con el fin de optar el Grado Académico de Magíster en Epidemiología. Concluida la exposición, se procedió a la evaluación correspondiente, habiendo obtenido la siguiente calificación **B MUY BUENO (17)** A continuación el Presidente del Jurado recomienda a la Facultad de Medicina se le otorgue el Grado Académico de **MAGÍSTER EN EPIDEMIOLOGÍA** al postulante **Jose Fernando Matta Chuquisapon**.

Se expide la presente Acta y siendo la 12:35 pm. se da por concluido el acto académico de sustentación.

Dra. Julia Rosa Piscocoya Sara
Profesor Principal
Presidente

Mg. Martin Javier Alfredo Yagui Moscoso
Profesor Asociado
Miembro

Mg. Pedro Gustavo Valencia Vásquez
Profesor Principal
Miembro



Dr. Heli Jaime Barrón Pastor
Profesor Principal
Asesor



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú, Decana de América
Facultad de Medicina
Unidad de Posgrado



INFORME DE EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD N° 018

El Vicedecano de Investigación y Posgrado y Director de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, deja constancia que:

La tesis (X) Proyecto de investigación () o trabajo de investigación ()

Titulada/o: **“COMPARACIÓN DE GRUPOS FILOGENÉTICOS Y GENES DE RESISTENCIA A BETALACTÁMICOS DE Escherichia coli ENTRE AISLAMIENTOS DE MUESTRAS CLÍNICAS Y COLONIZANTES INTESTINALES”**

Presentada/o por **JOSE FERNANDO MATTA CHUQUISAPON**

Para optar el
Grado de Doctor () en
Grado de Magister (X) en **EPIDEMIOLOGIA**
Título de Segunda Especialidad () en
Diplomado () en

Ha sido sometida/o a evaluación de originalidad, con el programa informático de similitudes Software TURNITIN con **Identificador de la entrega N° 2042013441**

En la configuración del detector se excluyeron:

- Textos entrecomillados
- Bibliografía
- Cadenas menores de 40 palabras
- Anexos

El resultado final de similitudes fue del 10%

Por lo tanto, el documento arriba señalado * **CUMPLE** con los criterios de originalidad requeridos.

*cumple o no cumple

Operador del software: **DR. JORGE WALTER CALDERON MORALES**

Lima, 20 de marzo de 2023.



Firmado digitalmente por IZAGUIRRE
SOTOMAYOR Manuel Hernan FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 04.05.2023 22:23:19 -05:00

.....
Dr. MANUEL HERNAN IZAGUIRRE SOTOMAYOR

Director de la Unidad de Posgrado

Dedicatoria

Dedicado a mi familia, que siempre está conmigo en todo lo que me propongo. En especial a mi madre, que con su amor, confianza y paciencia me acompaña desde siempre en todos las metas que he cumplido. Para ti va dedicado esto y todo lo que está por venir.

Agradecimientos

Al Dr. Heli Barrón,

por la asesoría, consejos, tiempo y facilidades brindadas para el desarrollo de esta tesis.

A los Lic. Raúl Sevilla y Lic. Esther Valencia,

por el apoyo y confianza de siempre desde el pregrado. Por el consejo y enseñanza con el que me voy en cada oportunidad que conversamos.

Al Dr. Jorge Alarcón Villaverde, director ejecutivo del Centro de Investigaciones Tecnológicas, Biomédicas y Medioambientales – CITBM.

Al todo el personal del laboratorio de Epidemiología Molecular y Genética - LEMYG por su apoyo.

Al Grupo de investigación en Resistencia a los antimicrobianos (MICRESIS) y al Grupo de Investigación y Docencia en Medicina Molecular (MEDMOL).

A todas las personas que indirectamente apoyaron a la realización de este trabajo.

A todos, muchas gracias.

INDICE GENERAL

INDICE GENERAL	ii
Lista de tablas:	v
Lista de gráficos:	v
RESUMEN:	vi
ABSTRACT:	vii
CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN	1
1.1. Situación Problemática	1
1.2. Formulación del Problema.....	2
1.3. Justificación teórica	2
1.4. Justificación práctica.....	3
1.5. Objetivos	3
CAPITULO 2: MARCO TEÓRICO	5
2.1. Antecedentes de investigación.....	5
2.2. Glosario de términos	14
2.3. Operacionalización de variables	15
CAPITULO 3: METODOLOGÍA	16
3.1. Tipo y diseño de investigación	16
3.2. Unidad de análisis	16
3.3. Población de estudio	16
3.4. Tamaño de muestra	16
3.5. Selección de muestra	16
3.6. Técnica de recolección de datos	17
3.7. Instrumento de recolección de datos.....	18
3.8. Análisis de los datos	18
3.9. Consideraciones éticas	19
CAPITULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
4.1. Presentación y análisis de resultados	20
4.2. Discusión	29
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	35
ANEXOS	48

Lista de tablas:

Tabla 1. Clasificación de betalactamasas de Bush – Jacoby.

Tabla 2. Tabla de operacionalización de variables.

Tabla 3. Características generales de los aislamientos de *Escherichia coli*.

Tabla 4. Características generales de los aislamientos de *Escherichia coli* según origen.

Tabla 5. Distribución de grupos filogenéticos según el tipo de aislamiento.

Tabla 6. Estimados de la regresión logística para los grupos filogenéticos según el origen de la muestra.

Tabla 7. Distribución de los grupos filogenéticos de *Echerichia coli* y las características generales del total de aislamientos.

Tabla 8. Distribución de los grupos filogenéticos de *Escherichia coli* y las características generales de los aislamientos clínicos.

Tabla 9. Distribución de los grupos filogenéticos de *Escherichia coli* y las características generales de los aislamientos de hisopados.

Lista de gráficos:

Gráfico 1 Detección de ampC por el método de disco difusión.

Gráfico 2. Detección de BLEE por el método de disco difusión.

Gráfico 3. Detección de betalactamasas tipo metalobetalactamasa por disco difusión.

Gráfico 4. Proporciones de resistencia a los antimicrobianos.

RESUMEN:

Introducción: Las infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS) representan un grave problema para los hospitales y la salud pública. En el caso de pacientes inmunosuprimidos, como los oncológicos, el problema cobra mayor importancia debido a que el tratamiento, aun siendo adecuado, puede fallar debido a deterioro de la inmunidad del paciente. Conocer las características de las principales bacterias que causan IAAS, mediante métodos moleculares, pueden ayudar a detectar brotes y contribuir con los sistemas de vigilancia epidemiológica.

Métodos: Estudio transversal. Se incluyeron 113 aislamientos de *Escherichia coli* productoras de betalactamasa de espectro extendido. Estas fueron obtenidas de aislamientos clínicos (67) y de muestras de hisopados anales (46) de pacientes hospitalizados en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas durante el 2017. Se buscó determinar diferencias significativas entre los grupos filogenéticos de cada grupo (muestras clínicas e hisopados anales). Para esto, se determinó el grupo filogenético mediante el método de Clermont *et al.*, se describió el perfil de resistencia a los antibióticos, los genes de resistencia de acuerdo con los servicios de hospitalización de donde fueron recuperados.

Resultados: El grupo filogenético más frecuente en las muestras clínicas fue el B2 (35,6%) y en las muestras de hisopado fueron D o E (29,5%). Se encontró diferencia significativa entre los grupos filogenéticos y el tipo del aislamiento, siendo las muestras clínicas los de mayor probabilidad de ser filogrupo B1 (OR = 8,78 [IC 95%: 1,08-71,38]). Además, se evidenció una frecuencia de 84% para el gen CTX-M, resistencia a ciprofloxacino (78% para hisopados anales y 91% para muestras clínicas) y gentamicina (51% para muestras clínicas y 61% para hisopados anales) y amikacina (3% para muestras clínicas y 15% para hisopados anales).

Conclusiones: Se evidencia una gran diversidad en los grupos filogenéticos de *Escherichia coli* aisladas de muestras clínicas y de hisopados anales. Se demostró que existen diferencias significativas entre los grupos filogenéticos de cepas de *Escherichia coli* aisladas de muestras clínicas y de hisopados anales. Además, se encontró una alta frecuencia de betalactamasa tipo CTX-M, y una alta frecuencia de resistencia a quinolonas y aminoglucósidos

Palabras clave: filogenético, *Escherichia coli*, resistencia, antimicrobianos.

ABSTRACT:

Introduction: Healthcare-associated infections (HAIs) represent a serious problem for hospitals and public health. In the case of immunosuppressed patients, such as oncologic patients, the problem becomes more important because the treatment, even if adequate, can fail due to deterioration of the patient's immunity. Knowing the characteristics of the main bacteria that cause HAIs, through molecular methods, can help to detect outbreaks and contribute to epidemiological surveillance systems.

Methods: Methods: Cross-sectional study. We included 113 isolates of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. These were obtained from clinical isolates (67) and anal swab samples (46) from hospitalized patients at the National Institute of Neoplastic Diseases during 2017. We aimed to determine significant differences between the phylogenetic groups of each group (clinical samples and anal swabs). For this, the phylogenetic group was determined using the Clermont et al. method, the antibiotic resistance profile was described, the resistance genes according to the hospitalization services from where they were recovered.

Results: The most frequent phylogenetic group in clinical samples was B2 (36%) and in swab samples were D or E (30%). A significant difference was found between phylogenetic groups and type of isolate, with clinical samples being more likely to be phylogroup B1 (OR = 8.78 [95% CI: 1.08-71.38]). In addition, a frequency of 85% was evidenced for the CTX-M gene, resistance to ciprofloxacin (78% for anal swabs and 91% for clinical samples) and gentamicin (51% for clinical samples and 61% for anal swabs) and amikacin (3% for clinical samples and 15% for anal swabs).

Conclusions: A great diversity in the phylogenetic groups of *Escherichia coli* isolated from clinical samples and anal swabs is evident. It was demonstrated that there are significant differences between the phylogenetic groups of *Escherichia coli* strains isolated from clinical samples and anal swabs. In addition, a high frequency of CTX-M type beta-lactamase, and a high frequency of resistance to quinolones and aminoglycosides were found.

Key words: phylogenetic, *Escherichia coli*, resistance, antimicrobial

CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1.Situación Problemática

Salud pública es definida como el conjunto de estrategias de una sociedad para la prevención de las enfermedades y promoción de la salud para prolongar y mejorar la calidad de vida de las personas (Bjørn Jensen et al., 2018). Para esto, en la salud pública se utilizan los sistemas de vigilancia epidemiológica (SVE) que permite recopilar información de manera sistemática sobre los problema de salud, con el fin de poder detectarlos oportunamente y monitorizar el impacto de las intervenciones para el control de estas (Fierro, 2004). Para la salud pública existen problemas de la salud que son de vital importancia monitorizar, tales como las enfermedades infecciosas (intrahospitalarias y comunitarias), metaxénicas, intoxicaciones por plaguicidas, enfermedades de transmisión sexual, inmunoprevenibles, entre otras (Suárez-Ognio, 2003). El objetivo de los sistemas de vigilancia de infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS) es recopilar información para prevenir y/o controlar brotes en los pacientes hospitalizados, personal de salud y demás personas que estén asociadas a este (Haque et al., 2018). Las IAAS son un problema de salud pública por la morbilidad y mortalidad que causan, trayendo consigo un alto gasto de recursos en los hospitales (“Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades”, 2019).

Las bacterias responsables de este tipo de infecciones, que cobran mayor importancia debido a los mecanismos de resistencia a los antibióticos que poseen, son agrupadas en el denominado grupo ESKAPE (*Enterococcus sp*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella sp*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter* (Arias-Flores et al., 2016). Sin embargo, debido a la elevada frecuencia de infecciones por *Escherichia coli* y los mecanismos de resistencia que puede adquirir, algunos autores incluyen a esta bacteria en el grupo de riesgo (Velázquez-Acosta et al., 2018).

Escherichia coli es un patógeno que también se le encuentra como parte de la microbiota intestinal, haciéndose imposible diferenciar fenotípicamente las patógenas de las comensales. A pesar de los esfuerzos por crear una vacuna para las infecciones por *Escherichia coli* desde los años 90s, esta bacteria es capaz de causar bacteremias desde cualquier foco, como las urosepsis en adultos o meningitis en neonatos (Cross et al., 1994; Russo & Johnson, 2003). Es el responsable de más de la mitad de infecciones de tracto urinario, seguido por las bacteremias y las infecciones de tejidos blandos (52%, 25% y

14%, respectivamente) (Poolman & Wacker, 2016). Los aislamientos de *Escherichia coli* se han agrupado principalmente, según sus características moleculares, como filogrupos A, B1, B2, D y E (Clermont et al., 2013; Denamur et al., 2021). Los grupos B2 y D, han sido asociados a la mayoría de infecciones extraintestinales por *Escherichia coli* ya que poseen factores de virulencia que le permiten sobrevivir en ambientes hostiles para la bacteria fuera del intestino (Bozcal et al., 2018; Poolman & Wacker, 2016). En los ambientes hospitalarios es importante conocer la distribución de las poblaciones de los gérmenes para poder controlar posibles brotes de infecciones intrahospitalarias y la diseminación de mecanismos de resistencia a otros géneros bacterianos (Coura et al., 2017). Debido a lo expuesto anteriormente, en este estudio se han determinado los grupos filogenéticos de los aislamientos de *Escherichia coli* obtenidos de muestras clínicas y colonizantes intestinales de pacientes hospitalizados en el Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. Además, se buscó evidenciar la diferencia significativa entre los grupos filogenéticos de ambos grupos, así como describir el perfil fenotípico de la resistencia antimicrobiana y los genes de resistencia a betalactámicos.

1.2. Formulación del Problema

¿Existe diferencia en los grupos filogenéticos y genes de resistencia a betalactámicos de *Escherichia coli* entre aislamientos de muestras clínicas y colonizantes intestinales de portadores sanos?

1.3. Justificación teórica

La diversidad genética de *Escherichia coli* patógenas extraintestinales ha permitido que puedan ser agrupadas para poder estudiarlas con detalle. La clasificación en grupos filogenéticos permite estudiar la dinámica de las poblaciones de *Escherichia coli* que circulan tanto en la comunidad como en los ambientes hospitalarios, tomando en cuenta su relación con el desarrollo de enfermedades y la gravedad de estas (Clermont et al., 2013; Coura et al., 2017). Las características fenotípicas que comparten los aislamientos de *Escherichia coli* que pertenecen a cada grupo, incluyen características de crecimiento, de metabolismos de algunos carbohidratos y de perfil de resistencia a los antimicrobianos (Gordon et al., 2008). Los grupos D y B2, los más frecuentes en aislamientos clínicos, están asociados a una mayor frecuencia de producción de exotoxinas en órganos y

sistemas donde hay una mayor incidencia de infecciones ocasionadas por esta bacteria (B2 en todos los tejidos, mientras que D generalmente en vías urinarias).

Por otra parte, es frecuente encontrar en el grupo B2 a cepas de *Escherichia coli* del serogrupo O25 que están fuertemente asociados a la presencia de mecanismos de resistencia como las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) (Shokouhi Mostafavi et al., 2019). La microbiota intestinal es el principal reservorio de gérmenes con mecanismos de resistencia que pueden ser un problema si es que estos gérmenes causan una infección o si los genes de resistencia que poseen son transmitidos horizontalmente a otros géneros bacterianos. En el caso de *Escherichia coli* podemos encontrar todo el espectro de mecanismos de resistencia a los betalactámicos, desde enzimas con actividad sobre penicilinas y algunas cefalosporinas (ampC) hasta betalactamasas de amplio espectro y carbapenemasas (Marshall et al., 2009).

1.4. Justificación práctica

En un sistema de vigilancia de agentes infecciosos en ambientes hospitalarios, las características genotípicas de estos microorganismos son tan o más importantes que el perfil fenotípico. Con la información que brinda el perfil molecular de los microorganismos que circulan en un hospital, se podría detectar episodios de transmisión que no son “visibles” ya que no sugieren un aumento significativo de los casos. La clasificación filogenética permite saber si los agentes infecciosos relacionados epidemiológicamente también lo están genéticamente, confirmando así que se tratan del mismo agente (Singh et al., 2006). Además, se podría evidenciar la presencia de reservorios de gérmenes con mecanismos de resistencia o factores de virulencia en los pacientes sanos de un hospital (Fernández Cuenca et al., 2013; Singh et al., 2006).

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo general

- Comparar las diferencias de grupos filogenéticos y genes de resistencia a betalactámicos de *Escherichia coli* entre aislamientos de muestras clínicas y colonizantes intestinales de portadores sanos.

1.5.2. Objetivos específicos

- Determinar la frecuencia de grupos filogenéticos de los aislamientos de *Escherichia coli* colonizantes intestinales.
- Determinar la frecuencia de grupos filogenéticos de los aislamientos de *Escherichia coli* de muestras clínicas.
- Determinar la frecuencia de los genes de resistencia a betalactámicos en los aislamientos de *Escherichia coli* de muestras clínicas.
- Determinar la frecuencia de los genes de resistencia a betalactámicos en los aislamientos de *Escherichia coli* colonizantes intestinales.
- Evaluar la asociación entre los grupos filogenéticos y las demás variables incluidas (tipo de muestra, servicio, edad y sexo).

CAPITULO 2: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de investigación

En los últimos años se han desarrollado diversos estudios sobre la distribución filogenética de *Escherichia coli* causante de infecciones en el ser humano. Además, los estudios reportados incluyen factores relacionados como los mecanismos de resistencia, factores de virulencia, entre otros. En Turquía, Bozcal E. *et al.* (Bozcal et al., 2018) estudiaron la relación entre los grupos filogenéticos, virulencia y resistencia antibiótica de *Escherichia coli* patógenas extraintestinales aisladas de hemocultivos (n=104). El estudio tuvo como resultados que el 54,63% de los aislamientos fueron productores de BLEE, el filogrupo de mayor frecuencia fue el D (38,14 %) seguido por A, B2 y B1 (29,89%, 20,61% y 11,34%, respectivamente). Los factores de virulencia de mayor frecuencia fueron los sideróforos traT (55,7 %) y iutA (45,3%). Concluyen además que el sideróforo Yersiniabactina (iutA) podría ser un factor de virulencia característico de los aislamientos de *Escherichia coli* que causan bacteremias.

Por otro lado, en La India, Chakraborty *et al.* (Chakraborty et al., 2015) teniendo en cuenta que los aislamientos de *Escherichia coli* patógena extraintestinal pertenecen generalmente a los filogrupos B2 y D, compararon si esta distribución filogenética tenía relación con el sitio de infección, factores de virulencia, perfil de susceptibilidad a los antibióticos y el desenlace clínico. Se trabajó con un total de 300 aislamientos de *Escherichia coli* patógenas extraintestinales, y se encontró que los grupos B2 y D fueron los filogrupos de mayor frecuencia (35% y 26%, respectivamente), seguido del grupo A y B1. Los filogrupos B2 y D fueron los filogrupos de mayor frecuencia en los casos de infección del tracto urinario y sepsis. El pronóstico clínico fue mejor en las infecciones causadas por cepas que pertenecían a los filogrupos A y B1. La expresión de hemolisinas fue en su mayoría en los aislamientos del grupo B2 y la formación de biofilms, en el grupo A. Se evidenció también que los aislamientos del filogrupo B2 eran productores de betalactamasa como BLEE, carbapenemasas y metalobetalactamasas.

En Polonia, Sarowska *et al.* (Sarowska et al., 2019) hicieron una revisión sobre *Escherichia coli* patógena extraintestinal, tomando en cuenta su importancia clínica y sus factores de virulencia. El estudio describe características de las adhesinas, toxinas, factores de adquisición de hierro, lipopolisacárido, cápsulas e invasinas, que generalmente son codificados en islas de patogenicidad (PAI), plásmidos y otros

elementos genéticos móviles. Otro punto importante que se toma en cuenta es la transmisión de ExPEC a comida, personas o el medio ambiente y la necesidad de establecer la distinción entre colonización de ExPEC e infección.

En Irán, Shokouhi *et al.* (Shokouhi Mostafavi et al., 2019) realizaron un estudio donde describieron los serogrupos, las exotoxinas y los grupos filogenéticos de las *Escherichia coli* uropatógena (UPEC) productoras de betalactamasas tipo CTX-M-1. En el estudio se incluyeron 248 aislamientos de UPEC, donde encontró que los serogrupos O1 y O25 fueron los más predominantes, el 32,6% fue productor de hemolisina (*hlyA*), seguido por Sat (28,4%) y Vat (22,1%). Además, se encontró asociación entre la presencia de hemolisina (*hlyA*) y pielonefritis y que casi la mitad de los aislamientos (45,4%) eran del filogrupo B2.

En Italia, Pompilio A. *et al.* (Pompilio et al., 2018) trabajaron con cepas de UPEC aisladas de pacientes con pielonefritis. El grupo filogenético de mayor frecuencia fue el B1 (68,8%), y los factores de virulencia más frecuentes fueron *ecpA* y *fyuA* (92,4% y 86,7%, respectivamente). Los aislamientos de UPEC que poseían el gen *iha* estaban asociados a la formación de biofilms.

En EEUU, Cole et al. (Cole et al., 2019), trabajaron con 43 cepas de *Escherichia coli* aisladas de bacteremias en recién nacidos, a los cuales determinaron los grupos filogenéticos, factores de virulencia y perfil de resistencia a los antimicrobianos. Encontraron que el 67% era resistente a ampicilina, el 14 % a gentamicina y 14% a ceftriaxona. El grupo filogenético predominante fue el B2, y encontraron factores de virulencia como *FimH*, *nlpl*, *ompA* y, además, el 46% tenía el antígeno K1, asociado a capsula.

Ranjbar et al. (Ranjbar et al., 2020), realizaron un estudio de análisis filogenético y resistencia antibiótica de *Escherichia coli* en pacientes UCI. Además, se encontró que el 86,6% fueron resistentes a ampicilina, el 93,3% a estreptomina, y por otro lado, el grupo filogenético más frecuente fue B2 con 83%, seguido del D con 10%.

En Nepal, el grupo de Koirala et al. (Koirala et al., 2021), estudio la prevalencia de *Escherichia coli* productora de BLEE por el gen CTX-M. *Escherichia coli* tuvo una prevalencia de CTX-M del 93,8%. Además, reportó que solo gentamicina mostro alta frecuencia de efectividad sobre las cepas de *Escherichia coli*.

Mahmoudi H. et al (Mahmoudi et al., 2020) realizaron un estudio en pacientes con cáncer colorrectal, donde buscaron cepas de *Escherichia coli* resistentes a quinolonas y colistina colonizantes de la mucosa intestinal. En el estudio se encontraron altos niveles de

resistencia a piperacilina (67.5%), ceftazidima (47.5%) y cefepime (42.5%). El 60 % de los aislamientos tenían genes de resistencia a quinolonas (*qnr A*), aunque no se encontraron cepas resistentes a colistina mediante el gen *mcr-1*.

A nivel regional también se han reportado estudios en *Escherichia coli* y sus genes de resistencia, grupos filogenéticos, factores de virulencia, entre otros. Hernández et al. (Hernández et al., 2014), en Venezuela, estudiaron la prevalencia de las betalactamasas CTX-M-15 y grupos filogenéticos de *Escherichia coli* en pacientes de la comunidad. El estudio reportó que el total de cepas eran productoras de BLEE y que, además, el 23.8% poseían más de 1 gen de betalactamasa (CTX-M-15, TEM-1, SHV). En relación con los grupos filogenéticos, el 61% pertenecían al grupo A, y los restantes, al grupo B2. En Brasil, Capett et al. (Capett et al., 2016) busco caracterizar, en función de grupos filogenéticos y factores de virulencia, a los aislamientos de *Escherichia coli* resistentes y sensibles a ciprofloxacino aislados de pacientes con cáncer ginecológico. Encontró que solo en las cepas resistentes a ciprofloxacino tenían sideróforos, mientras que, en las sensibles, encontraron sideróforos y toxinas. En relación con los grupos filogenéticos, encontraron que el filogrupo B2 fue el predominante.

En el trabajo de Galindo M. (Galindo-Méndez & Galindo-Méndez, 2018) en México, se analizaron 288 cepas de *Escherichia coli* aisladas de urocultivos, encontrándose que el 31,3% eran productoras de BLEE, y de estas, el 95,6% poseían el gen *bla*CTX-M.

Además, Velásquez A. (Velásquez-Acosta et al., 2018), también en México, desarrollo un estudio retrospectivo con 33127 hemocultivos del 2005 al 2015. Encontró que *Escherichia coli* fue el germen de mayor aislamiento con 25%, y de estas el 41 % fue productora de BLEE.

En Perú, Gonzales A. (Gonzales Rodriguez et al., 2019), estudio la respuesta inmunometabólica en la orina de pacientes adultos mayores que residían en una casa de reposo con infección por *Escherichia coli*. Encontró que, en relación con los grupos filogenéticos, el grupo B2 fue el predominante, seguido del grupo D o E.

En el 2020, en Venezuela, Millán et al (Millán et al., 2020) estudiaron 17 cepas de *Escherichia coli* productora de BLEE obtenidas del Laboratorio de Microbiología de la universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. Encontró que el 41 % de los aislamientos pertenecían al grupo B2, todas las cepas pertenecientes al grupo A eran productoras de BLEE, y, además, reportó que los factores de virulencia más frecuentes fueron *fimH* y *fyuA*, con 82% cada uno.

Bases teóricas

Escherichia coli

Escherichia coli es un bacilo gram-negativo fermentador de glucosa, móvil, no esporulado. Está presente en la microbiota intestinal de todos los mamíferos, en el ambiente, pero también tiene la capacidad de generar infecciones (Quiroz, 2013). Los tipos de infecciones que es capaz de generar esta bacteria pueden ocurrir dentro del mismo intestino del hospedero o fuera de este.

Se sabe que existen diferencias entre las cepas de *Escherichia coli* patógenas intraintraestinales y las extraintestinales. En las primeras, los factores de virulencia que poseen le permiten adherirse al epitelio intestinal, alterarlo, producir toxinas hasta invadir el torrente sanguíneo (Croxen et al., 2013). En las segundas, las patógenas extraintestinales, poseen un mayor número de genes de virulencia ya que van a estar expuestas a un ambiente diferente al intestino; además, poseen adhesinas específicas para cada tipo de epitelio donde van a invadir, hemolisinas, leucocidinas, sideróforos para captar el hierro del ambiente además de mayor cantidad de genes de resistencia a antimicrobianos (Poolman & Wacker, 2016; Russo & Johnson, 2003).

GRUPOS FILOGENÉTICOS

Los grupos filogenéticos en *Escherichia coli* son grupos que fueron establecidos a partir de las diferencias en la movilidad electroforética de enzimas obtenidas de diversas cepas de *Escherichia coli* (Chaudhuri & Henderson, 2012). La técnica utilizada para detectar estas variaciones electroforéticas fue *el multi-locus enzyme electrophoresis* (MLEE), con la que se observó hasta 20 diferentes patrones de movilidad en 109 cepas de *Escherichia coli* (Milkman, 1973).

Con los datos obtenidos a través de estudios basados en MLEE, se establecieron un grupo de cepas de referencia, llamadas ECOR (*E. coli Reference*). Este cepario de referencia comprendía 72 cepas aisladas de humanos y 16 aisladas de mamíferos, con la finalidad de representar todas las cepas de *Escherichia coli* que se encuentran en la naturaleza (Whittam et al., 1983). Con los datos obtenidos de los experimentos utilizando MLEE y con ayuda del algoritmo de clasificación “UPGMA”, se estableció por primera vez 6 grupos filogenéticos: A, B1, B2, C, D y E (Whittam et al., 1987). En años posteriores se

probaron nuevas metodologías para generar estos grupos en base a diferencias genéticas (RFLP, RAPD, entre otras) pero todas concordaban con los obtenidos por la metodología MLEE (Diamant et al., 2004). Actualmente la metodología más sensible para el estudio de filogenia en *Escherichia coli* es la metodología MLST (*multi-locus sequence typing*), con el que actualmente se conocen hasta 7 grupos filogenéticos: A, B1, B2, C, D, E y F (Clermont et al., 2015). Se sabe que cepas de *Escherichia coli* de determinados grupos filogenéticos están asociados a sitios específicos de infección como también a características microbiológicas particulares, como las pertenecientes al grupo B2 y D, que están asociadas a las infecciones extraintestinales (infecciones del tracto urinario, sepsis, infección de herida, etc.) (Coura et al., 2017; Hojabri et al., 2019).

En el 2013, Clermont *et al.* diseñaron una metodología para la identificación rápida y efectiva de los grupos filogenéticos de *Escherichia coli*, basándose en un inicio en una PCR multiplex de 3 genes (chuA, yjaA y el fragmento TSPE4.C2), y luego en el 2013 agregó un gen más al método dándole así mayor poder de discriminación y confiabilidad comparado con el método de referencia (MLST) (Clermont et al., 2013).

MECANISMOS DE RESISTENCIA A BETALACTÁMICOS

La resistencia a los antimicrobianos en *Escherichia coli* es diversa. Esta bacteria es capaz de obtener mecanismos de resistencia para casi todas las familias de antibióticos, aunque la resistencia a betalactámicos es la más importante, debido a su naturaleza de fácil diseminación (Abarca & Herrera, 2001). Los mecanismos de resistencia se han clasificado según su estructura genética (Ambler) o según su mecanismo de acción (Bush). Ambler los clasificó en clases moleculares A, B, C y D; mientras que Bush lo hizo en grupos desde 1 al 4 (Navarro et al., 2011). En *Escherichia coli* es posible encontrar básicamente 3 mecanismos de resistencia a betalactámicos: betalactamasas tipo AmpC (clase C o grupo 1), betalactamasas de espectro extendido (clase A o grupo 2be) y carbapenemasas (grupo A, B o D).

Tabla 1. Clasificación de betalactamasas de Bush – Jacoby

BUSH- JACOBY GRUPO 2009	CLASE MOLECULAR AMBLER	SUSTRATO	INHIBIDOR		ENZIMA REPRESENTATIVA
			AMC	EDTA	
1	C	Cefalosporinas	NO	NO	ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1
1e	C	Cefalosporinas	NO	NO	GC1, CMY-37
2a	A	Penicilias	SI	NO	PC1
2b	A	Penicilias, cefalosporinas	SI	NO	TEM-1, TEM-2, SHV1
2be	A	Cefalosporinas de espectro extendido, monobactámicos	SI	NO	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
2br	A	Penicilinas	NO	NO	TEM-30, SHV-10
2ber	A	Cefalosporinas de espectro extendido, monobactámicos	NO	NO	TEM-50
2c	A	Carbenicilina	SI	NO	PSE-1, CARB-3
2ce	A	Carbenicilina	SI	NO	RTG-4
2d	D	cloxacilina	V	NO	OXA-1, OXA-10
2de	D	Cefalosporinas de espectro extendido	V	NO	OXA-11, OXA-15
2df	D	Carbapenémicos	V	NO	OXA-23, OXA-48
2e	A	Cefalosporinas de espectro extendido	SI	NO	CepA
2f	A	carbapenémicos	NO	NO	KPC-2, IMI-1, SME-1
3a	B	Carbapenémicos	NO	SI	IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1
3b	B	Carbapenémicos	NO	SI	L1, CAU-1, GOB-1, FEZ-1

Betalactamasas tipo AmpC (Clase A o grupo 1):

Enzima con capacidad de hidrolizar penicilinas y cefalosporinas de 1ra a 3ra generación incluyendo cefamicinas. No es inhibida por el ácido clavulánico pero sí por el ácido borónico (Rojas & Valle, 2009). La ubicación de esta enzima puede ser cromosómica o plasmídica, es decir, el gen se encuentra en el cromosoma bacteriano que es propio de algunos géneros bacterianos (*Enterobacter*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*, entre otras) o se puede encontrar en el ADN plasmídico, lo que significa que ha sido transferido por otra bacteria (Seral C., 2012).

En el primer caso, la producción de la enzima (y por lo tanto el nivel de resistencia) es bajo o nulo, por lo que fenotípicamente no muestra resistencia o presenta una resistencia baja, como pasa con algunas bacterias tales como *Citrobacter sp*, *Enterobacter*, *Morganella sp*, entre otros (Mohd Khari et al., 2016). Esta betalactamasa ampC aumenta su producción cuando existe un promotor que active el gen, como las cefalosporinas o el ácido clavulánico ocasionando resistencia hasta cefalosporinas de 3ra generación (Rojas & Valle, 2009). En el caso de las ampC plasmídicas, se da en bacterias que han recibido el gen de otra especie bacteriana, el cual ya viene con el promotor del gen por lo que genera alta resistencia sin necesidad de estar expuesto a un inductor (Seral C., 2012).

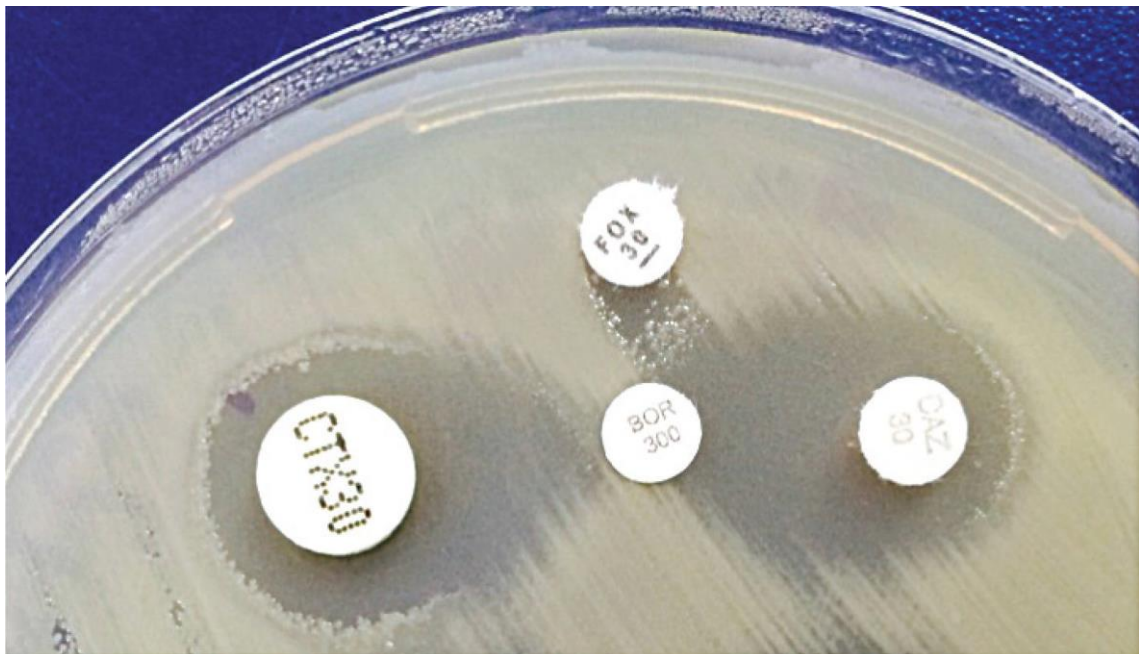


Gráfico 1. Detección de ampC por el método de disco difusión (Ayala et al., 2016). Se observa la sinergia de cefalosporinas de 3ra generación (ceftazidima y cefotaxima) y el ácido borónico.

Betalactamasas de espectro extendido (BLEE):

Estas enzimas, tienen la capacidad de hidrolizar penicilinas, cefalosporinas de 1ra a 4ta generación y monobactámicos, y son inhibidas por el ácido clavulánico. No tienen actividad sobre cefamicinas, por lo que es un indicador para diferenciarlas de las betalactamasas tipo AmpC. Estas enzimas aparecieron como una mutación de las betalactamasas tipo TEM-1, TEM-2 y SHV-1, con lo que adquirieron la capacidad de hidrolizar hasta cefalosporinas de 4ta generación como cefepime. La primera betalactamasa de espectro extendido fue descubierta en Alemania, en un gen *blaSHV* mutado, siendo *blaSHV-2* la primera betalactamasa descrita. Al año siguiente, en Francia, se describió la segunda betalactamasas de espectro extendido *blaTEM-3* con el mismo patrón de resistencia (García et al., 2010).

Años más tarde, se reportó una nueva enzima con actividad de BLEE, en un aislamiento de *Escherichia coli*. Estas enzimas fueron llamadas CTX-M y su origen es en *Kluyvera sp* que poseía este gen de manera natural (García et al., 2010).

Estas betalactamasas tipo CTX-M, se convirtieron en las de mayor frecuencia a nivel mundial en lo que se refiere a BLEEs. Se sabe también que este gen casi siempre está acompañado de otros genes de resistencia a otras familias, como las quinolonas, sulfonamidas (Bajaj et al., 2016).

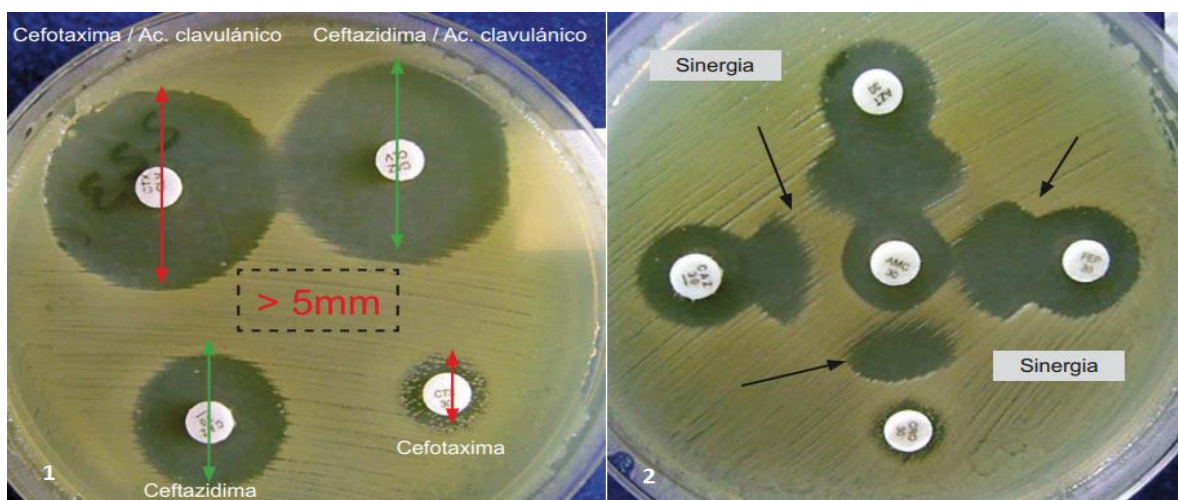


Gráfico 2. Detección de BLEE por el método de disco difusión (Lezameta et al., 2010). Se observa la sinergia de cefalosporinas de 3ra generación (ceftazidima y cefotaxima) y ácido clavulánico. Se observa una diferencia de halos >5 mm entre el disco de cefalosporina y el disco de cefalosporina + ácido clavulánico.

Carbapenemasas:

Según la clasificación molecular de las betalactamasas de Ambler y Bush, existen 3 tipos de betalactamasas con actividad carbapenemasa. Carbapenemasa extremas de la clase A (KPC), metalcarbapenemasas de clase B y las Oxacilinasas de la clase D. Las carbapenemasas del grupo A son betalactamasas con actividad extrema, es decir, tienen actividad sobre todos los betalactámicos hasta carbapenémicos. No son inhibidas por el ácido clavulánico, pero sí por el ácido borónico. La enzima más representativa de este grupo es la betalactamasa KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa) (Tekeli et al., 2020). Las carbapenemasas del grupo B, son betalactamasas con actividad sobre las penicilinas, cefalosporinas de 1ra a 4ta generación y carbapenémicos, pero no sobre aztreonam, a menos que esté combinado con otro mecanismo de resistencia como las BLEE. Solo son inhibidas por el EDTA, ya que al tener un metal (Zn^{++}) en su sitio activo, este agente quelante inactiva a la enzima quitándole así la actividad carbapenemasa. Existen diversos genes que codifican estos mecanismos de resistencia, pero son NDM, VIM e IMP los tipos más frecuentes de metalobetalactamasa (Somboro et al., 2018). Las carbapenemasas del grupo D, conocidas como oxacilinasas, son las betalactamasas con actividad carbapenemasa menos frecuentes en *Escherichia coli* ya que estas enzimas son naturales de no fermentadores como *Acinetobacter sp.* Confieren baja actividad frente a carbapenémicos, penicilinas y con algunas cefalosporinas (1ra y 2da generación) aunque cuando hay activación del gen, pueden generar alta resistencia (Bajaj et al., 2016; Cercenado E., 2015).

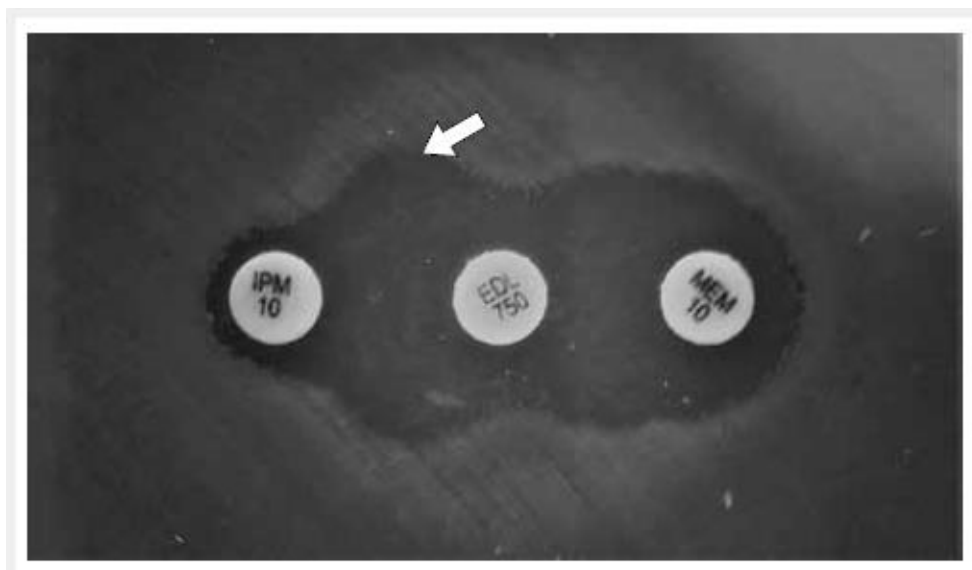


Gráfico 3. Detección de betalactamasas tipo metalobetalactamasa por disco difusión (Salvador-Luján et al., 2018). Se observa sinergia entre los discos de carbapenémicos y el disco de EDTA.

2.2.Glosario de términos

PATOTIPOS: Clasificación de *Escherichia coli* según sus características patológicas (sintomatología clínica)

UPEC: *Escherichia coli* uropatógena

MLST: *Multi-locus sequence typing*

FACTORES DE VIRULENCIA: factores que le brindan a los gérmenes la capacidad de invadir e infectar tejidos fuera de su ambiente natural.

BETALACTAMASAS: Enzimas con actividad hidrolítica frente a los betalactámicos.

CTX-M: Tipo de betalactamasa de espectro extendido con alta actividad frente a cefotaxima y ceftriaxona.

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

NDM: Metalobetalactamasa (Nueva-Delhi metalobetalactamasa).

VIM: Metalobetalactamasa (Verona- integrón metalobetalactamasa).

IMP: Metalobetalactamasa (Imipenemasa metalobetalactamasa).

RIQ: Rango intercuartílico

SIDERÓFORO: Estructuras proteicas de las bacterias para capturar hierro del ambiente.

HEMOLISINA: Toxina de algunas bacterias con la capacidad de lisar hematíes a través de la formación de poros en la membrana.

2.3.Operacionalización de variables

Tabla 2. Tabla de operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Naturaleza y escala	Dimensiones	Indicadores	Valores
Grupo filogenético	Grupos conformados por cepas de <i>Escherichia coli</i> que tienen relación evolutiva	Producto de amplificación medido en peso molecular (pb)	Cualitativa/nominal	chuA	Banda de 288 pb	Presencia o ausencia del gen
				arpA	Banda de 400 pb	
				yjaA	Banda de 211 pb	
				TspE4.C2	Banda de 152 pb	
Genes de resistencia a betalactámicos	Genes de codifican enzimas que hidrolizan betalactámicos	Producto de amplificación medido en peso molecular (pb)	Cualitativa/nominal	Genes de BLEE	<i>bla</i> CTX -M	Presencia o ausencia del gen
				Genes de carbapenemasas	<i>bla</i> KPC, <i>bla</i> NDM, <i>bla</i> OXA	
Origen del aislamiento	Lugar del foco de infección	Tipo de muestra de donde fue aislado	Cualitativa/nominal		Bases de datos	Vigilancia (Hisopados), Hemocultivo, Orina, Herida, Secreción bronquial, otros.
Sensibilidad antibiótica	Característica de las bacterias de responder o no a las diferentes familias de antimicrobianos	Sensibilidad, resistencia o sensibilidad intermedia de las bacterias a los antimicrobianos	Cualitativa/ordinal	Imipenem	Bases de datos	Sensible, Intermedio o Resistente
				Meropenem		
				Gentamicina		
				Amikacina		
				Ciprofloxacino		
Edad	Tiempo que transcurre desde el nacimiento	Años cumplidos hasta el registro en la base de datos	Cuantitativa/razón		Bases de datos	Cualquier valor > 0 años
Sexo	Característica genética basa en la presencia o no de un cromosoma Y	Sexo registrado en la base de datos	Cualitativa/nominal		Bases de datos	Hombre o Mujer

CAPITULO 3: METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación

Estudio de tipo transversal, analítico

3.2. Unidad de análisis

- Un aislamiento de *Escherichia coli*

3.3. Población de estudio

- Total de aislamientos de *Escherichia coli* del cepario obtenido del proyecto “Vigilancia epidemiológica de bacterias resistentes en infecciones asociadas a la atención en salud en los servicios de hospitalización del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN)” del periodo 2017-2018.

3.4. Tamaño de muestra

Se trabajaron con 113 aislamientos de *Escherichia coli* que representan el total de aislamientos pertenecen al cepario obtenido del proyecto “Vigilancia epidemiológica de bacterias resistentes en infecciones asociadas a la atención en salud en los servicios de hospitalización del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN)” del periodo 2017, conformado por aislamientos de origen clínico (67 aislamientos) y colonizantes intestinales (46 aislamientos).

3.5. Selección de muestra

Se trabajó con la totalidad de aislamientos de la población de *Escherichia coli* del año 2017.

3.6. Técnica de recolección de datos

REACTIVACIÓN DE LOS AISLAMIENTOS

Los aislamientos conservados a -80°C fueron reactivados en 3 etapas: (i) Siembra en agar cromogénico CHROMagar™ Orientation para evaluar pureza, (ii) Resiembra en agar tripticasa de soya para aislar colonias puras en un medio sin inhibidores y, finalmente, (iii) inoculación en caldo Luria-Bertani para empezar el protocolo de extracción de ADN con el kit Bactozol™ (Molecular Research Center, Inc.). Cada paso de resiembra hasta antes de la extracción de ADN tuvo un periodo de incubación de 24 horas a 37°C .

EXTRACCIÓN DEL ADN

La extracción de ADN se realizó usando el kit Bactozol™. En 100 uL de la solución de lisis Bactozol se agregó 3 a 5 colonias del agar TSA y se incubó a 50°C durante 15 minutos. Luego se agregó 400 uL de DNAzol y se incubó 5 minutos a temperatura ambiente. Luego de la incubación, se agregó 300 uL de etanol al 100%, se mezcló por inversión durante 15 segundos y se dejó a temperatura ambiente durante 5 minutos. Posterior a la incubación, se centrifugó a 3000 g durante 4 minutos a 4°C . Al pellet formado se añadió 1 mL de etanol al 75°C y fue mezclado en vortex. Se dejó reposar 1 a 2 minutos a temperatura ambiente y luego se retiró el etanol del sobrenadante. Se repitió el lavado una vez más. Finalmente, se agregó 300 uL de buffer TE al pellet de ADN que quedó en el vial y se dejó rehidratar durante 10 a 15 minutos a temperatura ambiente. Luego se almacenó a -20°C .

REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA

Para el perfil filogenético:

Se utilizó el protocolo estandarizado por Clermont et al. 2013, el cual usa una PCR multiplex para identificar los grupos filogenéticos utilizando 4 genes como indicadores (*chuA*, *yjaA*, *TspE4.C2* y *arpA*). (Anexo 1).

ELECTROFORESIS

Se realizó la electroforesis del ADN amplificado en un gel de agarosa al 2% para analizar los productos obtenidos, además, se corrió en simultáneo un DNA marcador de tamaños moleculares (ladder de 100 pb). Se utilizó RedSafe™ para visualizar las bandas de los productos obtenidos, luego se tomaron fotografías de las corridas electroforéticas para el análisis de los productos.

Todas las pruebas de detección molecular de este estudio (genes de resistencia a betalactámicos y factores de virulencia) se realizaron en el Laboratorio de Epidemiología Molecular y Genética – LEMYG del Centro de Investigaciones Tecnológicas, Biomédicas y Medioambientales – CITBM - UNMSM.

SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA Y GENES DE RESISTENCIA

Se tomaron los resultados de sensibilidad antibiótica y los genes de resistencia almacenados en la base de datos del proyecto “Vigilancia epidemiológica de bacterias resistentes en infecciones asociadas a la atención en salud en los servicios de hospitalización del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN) periodo 2017-2018”. Se tomaron como referencia los puntos de corte establecidos por el CLSI en su guía M-100S29. La base de datos también contiene los datos de edad, sexo, tipo de muestra y servicio de hospitalización de los pacientes de donde se aislaron las bacterias.

3.7. Instrumento de recolección de datos

Para la recolección de datos se utilizó el formato N° 1. Formato de recolección de datos (Anexo 2).

3.8. Análisis de los datos

Se generó una base de datos secundaria añadiendo los datos obtenidos en este estudio utilizando el programa Excel 2019. Los datos fueron analizados utilizando el software de programación R (*R: The R Project for Statistical Computing*, 2020). Las variables cualitativas (grupo filogenético, sensibilidad antibiótica, origen del aislamiento, genes de resistencia a betalactámicos y sexo) fueron expresados en frecuencias absolutas y relativas. La variable edad fue expresada mediante mediana y rango intercuartílico. El

análisis bivariado fue mediante tablas de contingencia donde se utilizó el test exacto de Fisher para evaluar posibles asociaciones entre las variables principales (perfil filogenético, genes de resistencia a betalactámicos) y las variables cualitativas secundarias (sensibilidad antibiótica, origen de los aislamientos, sexo). Además, se evaluó la asociación entre las variables de aislamiento y sensibilidad antibiótica también con el test exacto de Fisher. Para el cálculo de la magnitud de asociación entre los grupos filogenéticos y el origen del aislamiento se calculó el *Odds ratio* (OR) mediante un modelo lineal generalizado.

3.9. Consideraciones éticas

Se trabajó con aislados bacterianos y no se consideró el nombre del paciente ni la historia clínica, por lo que no se considera necesario el consentimiento informado. Se solicitó la autorización de los autores del estudio principal para el uso de los aislamientos y de los datos obtenidos (Anexo 3). El estudio sigue los lineamientos de las buenas prácticas y de ética en investigación biomédica.

El proyecto fue parcialmente financiado por el Programa de Proyectos de investigación para Grupos de Investigación del Vicerrectorado de Investigación 2019 de la UNMSM con Código: A19011331.

CAPITULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Presentación y análisis de resultados

a) Descripción de datos

En este estudio se trabajaron con 113 cepas de *Escherichia coli* productoras de BLEE de pacientes oncológicos hospitalizados. La mediana de la edad de los pacientes de donde fueron recuperadas las cepas fue 52 años (RIQ: 25 - 62). Se observó una mayor frecuencia del sexo femenino a comparación de los hombres, con 56 % y 44 %, respectivamente. Medicina oncológica y urología fueron los servicios donde se recuperaron la mayor cantidad de aislamientos de *Escherichia coli*, con 56% y 17%, respectivamente. Las cepas obtenidas de muestras clínicas fueron 67 (59%) y las obtenidas de hisopados anales, 46 (41%) (Tabla 3).

Con respecto a los datos demográficos, grupos filogenéticos y genes de resistencia de las cepas de muestras clínicas fueron descritos anteriormente (Matta-Chuquisapon et al., 2022). Mas de la mitad de los aislamientos clínicos (54%) fueron obtenidos de muestras orina, seguido de hemocultivos con 42%. Con respecto a la susceptibilidad antimicrobiana, se obtuvo una alta frecuencia de resistencia a ciprofloxacino (91%) y dos aislamientos fueron resistentes a carbapenémicos (3%). De las cepas obtenidas por hisopados anales, la mediana de la edad fue 49 años (RIQ: 20–56) y las muestras fueron obtenidas en su mayoría en hombres (61%). Casi todas las muestras de hisopados anales (95,6%) fueron hechos en pacientes del servicio de medicina oncológica, seguido de pediatría y el servicio de tórax y mamas, con 2,2% cada uno. En el caso del perfil de susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de hisopados anales, no se encontró cepas resistentes a carbapenémicos. Se encontraron cepas resistentes a amikacina (15%), a gentamicina (61%), y ciprofloxacino (78%) (Tabla 3).

Tabla 3. Características generales de los aislamientos de Escherichia coli según origen

		Tipo de aislamiento	
		Muestras clínica (n = 67)	Muestras de hisopados (n = 46)
		n (%)	n (%)
Edad*		55 (28-71)	49 (20-56)
Sexo			
	Mujer	45 (67)	18 (39)
	Hombre	22 (33)	28 (61)
Tipo de Muestra			
	Sec. bronquial	3 (4,5)	-
	Orina	36 (54)	-
	Sangre	28 (42)	-
	Hisopado anal	-	46 (100)
Resistencia antibiótica			
Gentamicina	Resistente	34 (51)	28 (61)
	Intermedio	-	1 (3)
	Sensible	33 (49)	17 (36)
Amikacina	Resistente	2 (3)	7 (15)
	Intermedio	-	3 (7)
	Sensible	65 (97)	36 (78)
Ciprofloxacino	Resistente	61 (91)	36 (78)
	Intermedio	1 (1,5)	2 (4)
	Sensible	5 (7,5)	6 (18)
Meropenem	Resistente	2 (3)	-
	Intermedio	1 (1)	-
	Sensible	64 (96)	46 (100)
Imipenem	Resistente	2 (3)	-
	Intermedio	-	-
	Sensible	65 (97)	46 (100)

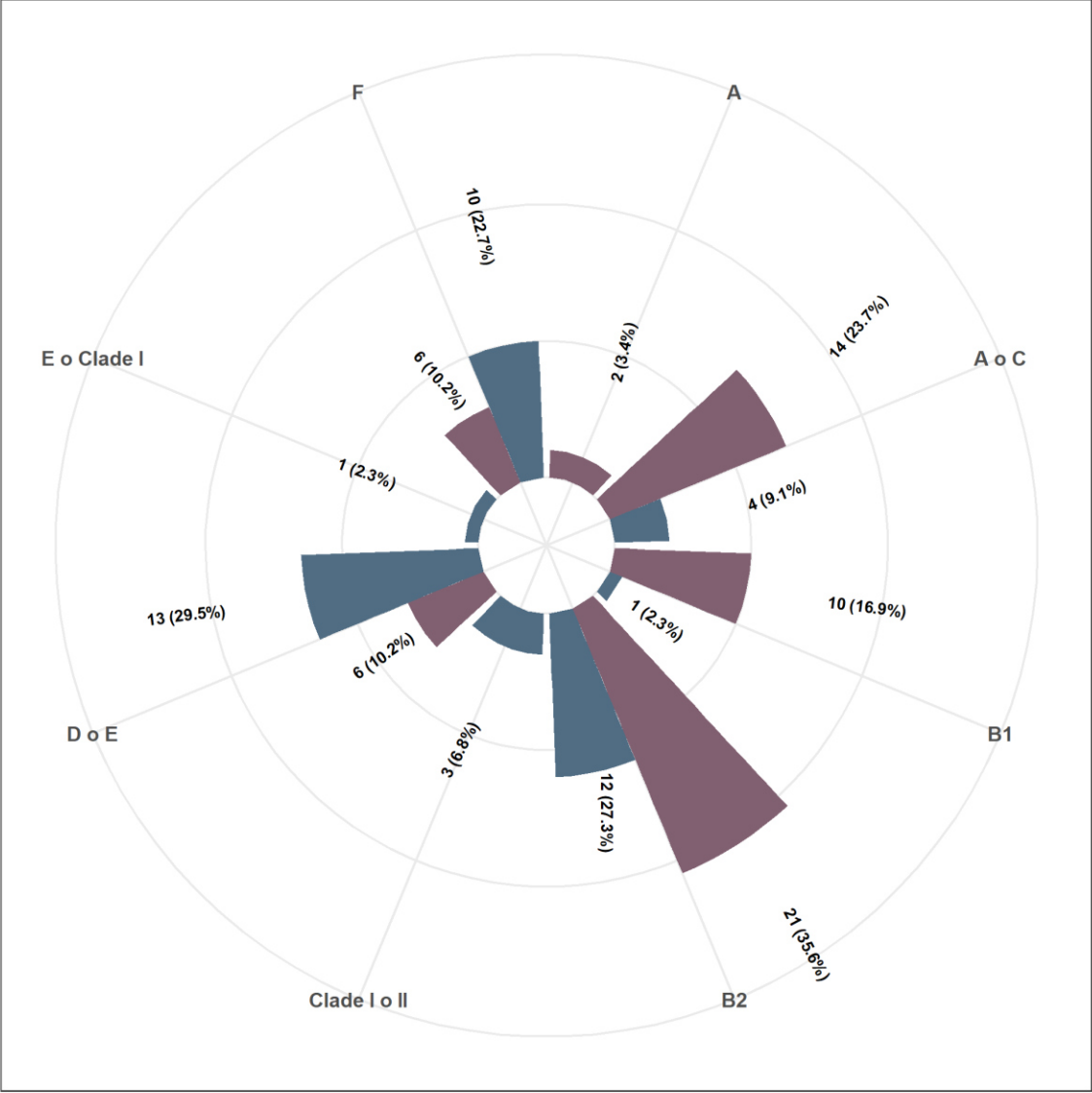
* La edad esta expresada en mediana y rango intercuartílico

a) Grupos filogenéticos

Para el análisis de grupos filogenéticos, se recuperaron el 91% (103/113) de los aislamientos de *Escherichia coli* del cepario del proyecto principal. Los grupos B2 y D o E fueron los predominantes con un 32% y 18,2%, respectivamente para el total de cepas incluidas en el estudio. En el caso de cepas de muestras clínicas, tal como se reportó previamente (Matta-Chuquisapon et al., 2022), los filogrupos B2 (35,6%) y A o C (23,7%) fueron los más frecuentes y, en el caso de las muestras de hisopado, el filogrupo D o E fue el más frecuente con 29,5% seguido del filogrupo B2, con 27%. (gráfico 4).

El gráfico 5 muestra la distribución de los aislamientos considerando el tipo de aislamiento, el grupo filogenético y el tipo de muestra de donde fue obtenido. Observamos que, en el caso de las muestras de vigilancia, los grupos filogenéticos D o E, B2 y F son los predominantes. En el caso de las muestras clínicas, observamos como los aislamientos obtenidos de muestras de orina son principalmente del grupo filogenético B2, seguido por A o C. En el caso de los aislamientos obtenidos de muestras de sangre, se concentra principalmente hacia el filogrupo B2, y los demás aislamientos se reparten casi proporcionalmente entre los demás filogrupos.

Como parte del objetivo del estudio, se buscó evidenciar la diferencia significativa entre los grupos filogenéticos y el tipo de aislamiento. Para esto, se crearon variable “dummy” para cada resultado de filogrupo obtenido como variable resultado y, como variable exposición, se utilizó el origen de la muestra (muestra clínica o de hisopados). Se ajustó un modelo lineal generalizado de familia binomial con función de enlace *logit* para el cálculo de OR. Se obtuvo que las muestras clínicas tenían menor chance de pertenecer al filogrupo D o E comparado con las muestras de hisopados (OR = 0,27 [IC 95%: 0,09 – 0,78]), sin embargo, tenían mayor chance de pertenecer al filogrupo B1 (OR = 8,78 [IC 95%: 1,08-71,38]). En la tabla 4 se muestran los resultados del modelo para los demás filogrupos. Además, se buscó establecer relaciones entre las demás variables y los grupos filogenéticos. En la tabla 7 se muestran las características generales de todos los aislamientos frente a los grupos filogenéticos identificados. No se evidenció relación significativa entre las variables y los grupos filogenéticos del total de aislamientos. En el caso de muestras clínicas, a pesar de no tener relación significativa con el tipo de muestra, se observó que las cepas del grupo B2 eran mayoritariamente de muestras de orina (57%) y, de las dos cepas resistentes a carbapenémicos encontradas, ambas pertenecían al filogrupo D o E.



■ Cepas clínicas ■ Cepas vigilancia

Gráfico 4. Frecuencia de grupos filogenéticos según el origen.

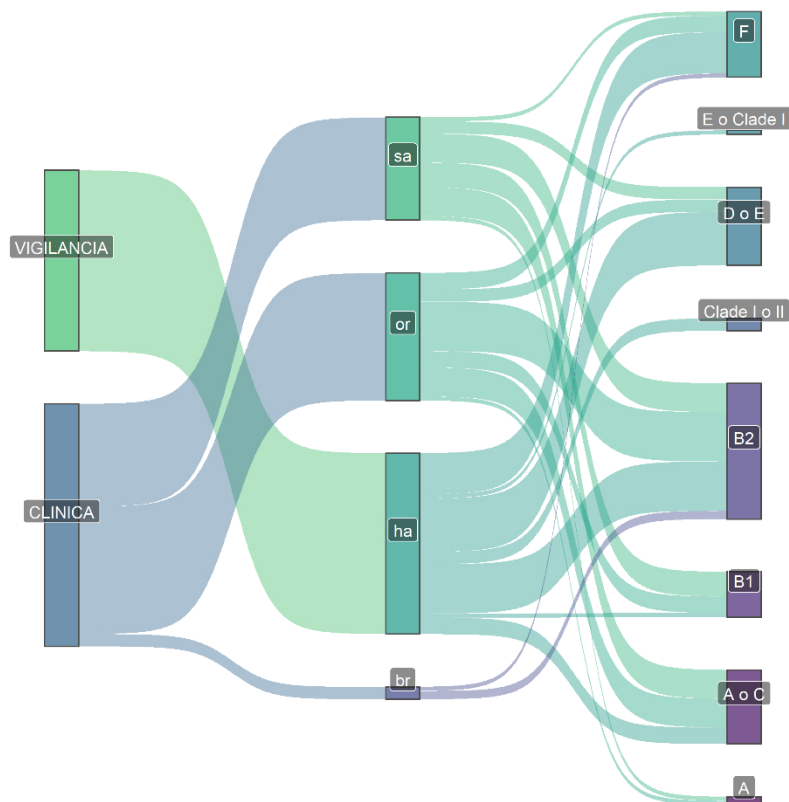


Gráfico 5. Distribución de grupos filogenéticos según tipo de aislamiento y tipo de muestra.
sa: Sangre, **or:** Orina, **ha:** hisopado anal, **br:** secreción bronquial

Tabla 4. Estimados de la regresión logística para los grupos filogenéticos según el origen de la muestra

	A o C	B1	P-value	B2	D o E	P-value
Intercepto	0,10	0,02		0,38	0,42	
M. clínica	3,11 [0,95 - 10,22]	8,78 [1,08-71,38]	<0,05	1.47 [0,63-3,45]	0,27 [0,09 - 0,78]	<0,05

*Nota: Se excluyeron de la tabla los grupos filogenéticos que resultaban en modelos no convergentes

b) Genes de resistencia

El estudio trabajó con cepas al menos productoras de BLEE. Se obtuvo una frecuencia de 84% (n=95) para el gen CTX-M, 13% (n=16) para otros genes de BLEE o no CTX-M y 2% para genes de resistencia a carbapenémicos (NDM y KPC). En el gráfico 6 podemos observar la distribución de los genes de resistencia a betalactámicos según el tipo de aislamiento y el servicio de donde se recuperaron los aislamientos. Podemos observar que, en el caso de los aislamientos de vigilancia, casi la totalidad eran portadores del gen CTX-M (91%), similar a lo obtenido en las muestras de origen clínico (79%). Sin embargo, en las muestras de origen clínico, encontramos a los dos aislamientos portadores de carbapenemasas tipo NDM y KPC. Estos genes de resistencia tienen una diversa distribución entre los servicios de hospitalización. Observamos que, en el caso de las CTX-M, se concentran en el servicio de medicina oncológica (56%) y urología (19%). Además, observamos que los dos aislamientos clínicos portadores de genes de carbapenemasas, fueron aislados de muestras del servicio de medicina oncológica (Matta-Chuquisapon et al., 2022).

Debido a que el gen CTX-M es el más frecuente, se agruparon los aislamientos como CTX-M y no CTX-M para hacer las comparaciones entre el origen de aislamiento y grupos filogenéticos. En la tabla 5 se muestra la frecuencia de genes CTX-M y no CTX-M frente al tipo de aislamiento, en la cual no se encontró diferencia significativa mediante el test exacto de Fisher. En el caso de los genes CTX-M y no CTX-M frente a los grupos filogenéticos, no se pudo realizar una prueba de hipótesis debido a los vacíos en algunas categorías. Sin embargo, podemos observar la presencia de otros genes de BLEE en todos los grupos filogenéticos encontrados para estos aislamientos, lo que difiere con los aislamientos de vigilancia, donde solo se encontró cepas no CTX-M en el filogrupo B2 (1 aislamiento) y en el F (2 aislamientos). Además, en los aislamientos de origen clínico, el gen CTX-M fue el más predominante en cada grupo filogenético, con excepción del filogrupo D o E, en el que la frecuencia de CTX-M fue de 50% (n=3).

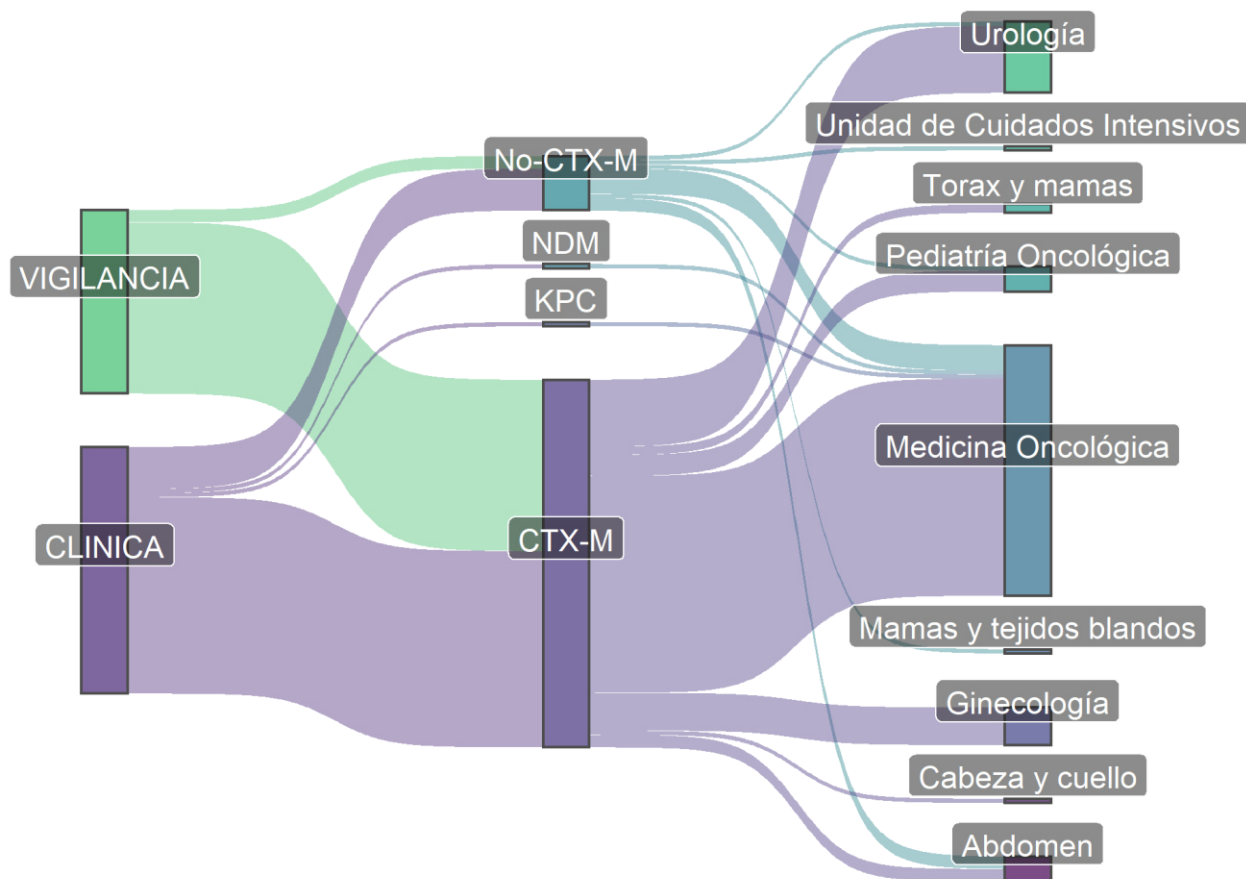


Gráfico 6. Distribución de grupos filogenéticos según genes de resistencia a betalactámicos y servicio de hospitalización de origen.

Tabla 5. Genes de resistencia a betalactámicos según origen del aislamiento

Genes de resistencia	Origen de aislamiento		p value*
	Clínica	Hisopado	
CTX-M	53 (79%)	42 (91%)	> 0,05
No CTX-M	14 (21%)	4 (8,7%)	

*test exacto de Fisher

Tabla 6. Distribución de los grupos filogenéticos de Echerichia coli y genes de resistencia (CTX-M)

		Grupos filogenéticos ^a							
		A	A o C	B1	B2	D o E	F	E o Clade I	Clade I o II
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Clínicas									
	CTX-M	2 (100)	12 (86)	7 (70)	18 (86)	3 (50)	5 (83)	-	-
	No CTX-M	-	2 (14)	3 (30)	3 (14)	3 (50)	1 (17)	-	-
Hisopados									
	CTX-M	-	4 (100)	1 (100)	11 (92)	13 (100)	8 (80)	1 (100)	3 (100)
	No CTX-M	-	-	-	1 (8.3)	-	2 (20)	-	-

a: 10 aislamientos no fueron recuperados por lo que no se determinó su grupo filogenético.

Tabla 7. Distribución de los grupos filogenéticos de Echerichia coli y las características generales del total de aislamientos

	N (Total)	Grupos filogenéticos ^a								
		A	A o C	B1	B2	D o E	F	E o Clade I	Clade I o II	
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
Edad	52 (28-71)	39 (32-46)	51 (28-67)	15 (4-41)	56 (30-70)	50 (20-58)	55 (38-62)	50 (50-50)	56 (42-56)	
Sexo										
	Mujer	59 (57)	1 (50)	10 (56)	8 (73)	17 (52)	8 (42)	12 (75)	1 (100)	2 (67)
	Hombre	44 (43)	1 (50)	8 (44)	3 (27)	16 (48)	11 (58)	4 (25)	-	1 (33)
Tipo de Muestra										
	Sec. bronquial	3 (3)	-	-	-	2 (6,2)	-	1 (6,3)	-	-
	Orina	31 (30)	1 (50)	7 (39)	4 (36)	12 (36,4)	3 (16)	4 (25)	-	-
	Sangre	25 (24)	1 (50)	7 (39)	6 (55)	7 (21)	3 (16)	1 (6,3)	-	-
	Hisopados	44 (43)	-	4 (22)	1 (9)	12 (36,4)	13 (68)	10 (62,4)	1 (100)	3 (100)
Resistencia antibiótica										
	Gentamicina (R)	58 (56)	1 (50)	10 (56)	4 (36)	16 (48)	13 (68)	12 (75)	1 (100)	1 (33)
	Amikacina (R)	9 (8,7)	-	2 (11)	-	3 (9,1)	4 (21)	1 (6,2)	-	-
	Ciprofloxacino (R)	90 (87)	1 (50)	17 (94)	7 (64)	31 (94)	16 (84)	6 (100)	1 (100)	2 (67)
	Meropenem (R)	2 (1,9)	-	-	-	-	1 (5,3)	-	-	-
	Imipenem (R)	2 (1,9)	-	1 (5,6)	-	-	1 (5,3)	-	-	-

Edad: mediana (IQR). a: 10 aislamientos no fueron recuperados por lo que no se determinó su grupo filogenético. b: Unidad de cuidados intensivos.

Discusión

El estudio de características moleculares en el estudio de las IAAS, como los grupos filogenéticos, ha cobrado mayor importancia en los últimos años. En este estudio, evidenciamos la gran diversidad genética en los aislamientos de *Escherichia coli* de origen clínico y colonizantes. También se encontró que existen diferencias significativas entre los grupos filogenéticos de las *Escherichia coli* de origen clínico y de vigilancia, siendo los aislamientos de origen clínico los de mayor probabilidad de ser del filogrupo B1 y, los de vigilancia (o colonizantes) con mayor probabilidad de ser del filogrupo D o E. Además, evidenciamos un alto nivel de resistencia a diferentes antibióticos no betalactámicos como quinolonas (ciprofloxacino) y aminoglucósidos (gentamicina y amikacina).

En este estudio evidenciamos por primera vez en un ambiente hospitalario en Perú la alta frecuencia del filogrupo B2 en aislamientos clínicos de *Escherichia coli*, que concuerdan con lo reportado a nivel internacional en Eslovaquia (62,3%) (Čurová et al., 2020), Mongolia (33,8%) (Munkhdelger et al., 2017), y a nivel regional en EEUU (35,8%) (Cole et al., 2019) y Venezuela (41%) (Hernández et al., 2014). Esto posiblemente debido a que este filogrupo ha sido descrito anteriormente como el que posee una gran diversidad de genes de virulencia como adhesinas, toxinas, protecticas y sistemas de captación de hierro (Denamur et al., 2021). Además, este filogrupo está relacionado a diversos patotipos de *Escherichia coli* como las *Escherichia coli* patógenas extra intestinales (ExPEC), uropatógena (UPEC), asociadas a neumonías (PAEC), entre otras (Denamur et al., 2021). También se ha evidenciado que los tipos ST131 de *Escherichia coli* pertenecen al filogrupo B2, siendo dicho tipo descrito por algunos autores como el que concentra la mayor cantidad de factores de virulencia y genes de resistencia a antibióticos, lo que le permite diseminarse y sobrevivir al sistema inmunitario en diferentes tejidos (Nicolas-Chanoine et al., 2014). Se ha descrito también la predominancia de otros grupos filogenéticos como el A en muestras clínicas de pacientes hospitalizados, como lo reportado en Ghana (Deku et al., 2022).

En el caso de las *Escherichia coli* colonizantes intestinales de pacientes oncológicos hospitalizados, no se ha descrito previamente sobre la frecuencia de los filogrupos. En este estudio evidenciamos que los filogrupos D o E y B2 fueron los más frecuentes. Sin embargo, se ha descrito, a nivel mundial, que el filogrupo de *Escherichia coli*

(colonizantes) de mayor frecuencia en humanos pertenecen al filogrupo A (40%), seguido del filogrupo B2 (25,5%) (Stoppe et al., 2017; Tenaillon et al., 2010). Específicamente, se ha descrito que en países como Croacia (35%), Benin (50%), Pakistán (47%) y, a nivel regional, Bolivia (77%) y Colombia (57%), el filogrupo A es el de mayor frecuencia en las *Escherichia coli* colonizantes intestinales (Stoppe et al., 2017; Tenaillon et al., 2010). Sin embargo, en países como EEUU (48%), Japón (44%), Australia (45%) y Suiza (46%), el filogrupo más frecuente es el B2 (Stoppe et al., 2017; Tenaillon et al., 2010). Es importante mencionar que, en estudios en animales, el filogrupo B1 es el predominante como colonizantes intestinales (Tenaillon et al., 2010). Esto podría sugerir que el grupo filogenético depende el hospedero, pero no hay evidencia sólida que lo sustente; sin embargo, la clona no virulenta del filogrupo B2 perteneciente al tipo O18 de *Escherichia coli*, se ha reportado como la única específica en humanos (Tenaillon et al., 2010).

Hasta donde se conoce, en nuestro país no hay estudios publicados que evalúan la diferencia entre la distribución de los grupos filogenéticos de *Escherichia coli* aisladas de muestras clínicas y de hisopados anales. En este estudio, evidenciamos diferencia significativa entre los filogrupos de *Escherichia coli* comensales y de muestras clínicas. Esta diferencia es comparable con lo descrito en España, donde encontraron diferencias significativas entre los filogrupos B2 y A entre muestras clínicas de hemocultivos y de muestras fecales (Rodríguez-Navarro et al., 2020). En este trabajo podemos observar que hay una mayor frecuencia de filogrupos B2 en muestras clínicas de hemocultivos comparado con las de muestras fecales, sin embargo, el filogrupo A es más frecuente en muestras fecales comparadas con las muestras de hemocultivos. Otro estudio desarrollado en París (Clermont et al., 2017) reportó diferencias significativas entre los filogrupos B2 y A de muestras clínicas y colonizantes. Encontraron, similar al estudio en España, que existe una mayor frecuencia de B2 en muestras clínicas comparado con las muestras de hisopados y, para el grupo A, una mayor frecuencia en las cepas comensales. La diferencia de los estudios antes mencionados y el presente estudio podría deberse a que solo se consideró recuperar, tanto para las muestras clínicas y de hisopado, cepas productoras de BLEE.

Un dato clave obtenido en este estudio es que calculamos la magnitud de la asociación, evidenciando que las muestras clínicas tenían mayor probabilidad de pertenecer al filogrupo B1 y, al contrario, menor probabilidad de pertenecer a los filogrupos D o E. No se encontró diferencia significativa entre el filogrupo B2 y el origen del aislamiento,

aunque esto posiblemente debido al tamaño de muestra, ya que se observan diferencias entre las frecuencias de B2 entre ambos tipos de muestras (36% y 27%, para clínicas e hisopados anales, respectivamente). Sin embargo, conocer la magnitud y dirección de la asociación entre los filogrupos y el origen del aislamiento, sería de gran relevancia si se introduce a los sistemas de vigilancia de infecciones intrahospitalarias, ya que podría darnos información sobre la dinámica de las bacterias entre los pacientes. Además, podríamos saber qué filogrupo estaría causando un posible brote y, tomando en cuenta lo descrito anteriormente, podríamos pensar en determinados patotipos de *Escherichia coli*, los factores de virulencia y, sobre todo, los mecanismos de resistencia a los antimicrobianos que podría tener dicho aislamiento. Debido a esto, métodos para determinar grupos filogenéticos, como el usado en este estudio (Clermont et al., 2013), toman mayor importancia ya que su costo-beneficio es menor comparado con otras metodologías disponibles (Gordon et al., 2008).

En relación con la resistencia antimicrobiana, en este estudio incluimos las cepas productoras de BLEE ya que estas siguen siendo un problema a nivel mundial y regional (Sader et al., 2002; Tejada-Llacsá et al., 2015). Evidenciamos una alta frecuencia del gen *bla*CTX-M, comparable con lo reportado en Portugal (97,5%) (Carvalho et al., 2021), Nepal (93%) (Koirala et al., 2021) y Sudan (78%) (Dirar et al., 2020). A nivel regional, en Venezuela y México se reportaron para el gen *bla*CTX-M, 76,6% y 95%, respectivamente (Galindo-Méndez & Galindo-Méndez, 2018; Hernández et al., 2014), los cuales también son valores similares a lo reportado en este estudio. A nivel local, en un hospital pediátrico de Lima se reportó un 94,4% de este gen (Gonzales et al., 2019), similar a lo reportado en un hospital ubicado en Cajamarca, con 93,3% (Rivera-Jacinto et al., 2015).

La opción terapéutica para las infecciones producidas por cepas productoras de BLEE son los carbapenémicos y los no betalactámicos (Pana & Zaoutis, 2018). Considerando lo anterior, evidenciamos que en 3 aislamientos de las muestras clínicas que no eran sensibles a carbapenémicos (2 resistentes y 1 intermedio), esto posiblemente a la presencia de otro mecanismo de resistencia además de la BLEE, como las betalactamasas *ampC*, OXAs o carbapenemasas (Gurung et al., 2020; van Boxtel et al., 2016).

En el caso de las quinolonas, evidenciamos la relación significativa entre los grupos filogenéticos de muestras clínicas y la resistencia a quinolonas en muestras clínicas, a diferencia de otros estudios (Munkhdelger et al., 2017; Ranjbar et al., 2020). Esto es

posiblemente debido a que trabajamos solo con cepas productoras de BLEE, en las que ya se han reportado estudios en los que teorizan la posibilidad de una cotransmisión de genes BLEE y de resistencia a quinolonas a través del mismo plásmido (Wiener et al., 2016). Además, encontramos altos niveles de resistencia, comparable con lo reportado en México (91,1%), Paraguay (87%), Chile (100%) y Perú (74,3%) (Dahiana et al., 2021; Galindo-Méndez & Galindo-Méndez, 2018; Marcos-Carbajal et al., 2021; Millán et al., 2020).

En el caso de la resistencia a gentamicina, en el presente estudio, se encontraron valores mayores a lo reportado tanto en Yemen (30%) (Alsharapy et al., 2018) como en un hospital de Perú (40%) (Marcos-Carbajal et al., 2021). Sin embargo, los valores obtenidos son comparables con los hallazgos en otro hospital peruano, con 58,3% (Gonzales et al., 2019), aunque menores que lo reportado en México (82,2%) (Galindo-Méndez & Galindo-Méndez, 2018).

Este estudio tiene algunas limitaciones, como la de no diferenciar los filogrupos A o C y los filogrupos D o E, debido a que esto requería un par más de primers descritos en la segunda parte del protocolo original (Clermont et al., 2013). No obstante, esto no representa mayor problema en la interpretación de los resultados ya que el protocolo inicial puede diferenciar sin problemas al filogrupo B2, el cual es el de mayor interés. Otra limitación es que las cepas solo fueron caracterizadas para el gen *bla*CTX-M, y no para los demás genes de BLEE, como *bla*TEM y *bla*SHV. Tercero, el tamaño de muestra es otra limitación del estudio ya que puede afectar las estimaciones realizadas, aunque se trabajó con el total de cepas del año de estudio. Finalmente, solo se caracterizaron cepas productoras de BLEE debido a que el estudio principal fue diseñado de esa forma, aunque los datos obtenidos concuerdan con lo reportado por la bibliografía reciente.

CONCLUSIONES

- Se evidencia una gran diversidad en los grupos filogenéticos de *Escherichia coli* aisladas de muestras clínicas y de hisopados anales de pacientes hospitalizados en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas.
- Existen diferencia significativa entre los grupos filogeneticos de cepas de *Escherichia coli* aisladas de muestras clínicas y de hisopados anales.
- Las cepas de muestras clínicas eran mucho más probables de pertenecer al filogrupo B1 comparadas con las cepas de hisopados anales.
- Se evidenció, además, una alta frecuencia de betalactamasa tipo CTX-M, además de una alta frecuencia de resistencia a quinolonas y aminoglucósidos, como ciprofloxacino y gentamicina, respectivamente.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda la incorporación de métodos moleculares a los sistemas de vigilancia existentes en los hospitales. El costo-beneficio de la detección de características filogenéticas de los aislamientos productores de IAAS permite establecer relación entre los casos detectados, ya sean en un mismo servicio de hospitalización o entre ellos.
- Se recomienda además estudiar con técnicas moleculares de mayor resolución (Secuenciamiento, MSLT, entre otros) a las bacterias productoras de IAAS para determinar, por ejemplo, tipos de *Escherichia coli* de importancia epidemiológica como la ST131.
- Investigar sobre los otros genes de BLEE y carbapenemasas además de factores de virulencia presentes en los pacientes hospitalizados tanto en muestras clínicas como en portadores.
- Realizar la investigación molecular de portadores no solo en pacientes ya hospitalizados sino también en los pacientes nuevos que ingresan para poder estudiar la evolución de la colonización con bacterias causantes de IAAS.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abarca, G., & Herrera, M. L. (2001). Betalactamasas: Su importancia en la clínica y su detección en el laboratorio. *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera*, 36(1-2), 77-104.
- Alsharapy, S. A., Yanat, B., Lopez-Cerero, L., Nasher, S. S., Díaz-De-Alba, P., Pascual, Á., Rodríguez-Martínez, J.-M., & Touati, A. (2018). Prevalence of ST131 Clone Producing Both ESBL CTX-M-15 and AAC(6')Ib-cr Among Ciprofloxacin-Resistant Escherichia coli Isolates from Yemen. *Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)*, 24(10), 1537-1542. <https://doi.org/10.1089/mdr.2018.0024>
- Arias-Flores, R., Rosado-Quiab, U., Vargas-Valerio, A., & Grajales-Muñiz, C. (2016). Los microorganismos causantes de infecciones nosocomiales en el Instituto Mexicano del Seguro Social. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.*, 5.
- Ayala, A. T., Acuña, H. M. B., Calvo, M. T. A., Morales, J. L. V., & Chacón, E. C. (2016). Emergencia de β -lactamasa AmpC plasmídica del grupo CMY-2 en Shigella sonnei y Salmonella spp. En Costa Rica, 2003-2015. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 40, 70-75.
- Bajaj, P., Singh, N. S., & Viridi, J. S. (2016). Escherichia coli β -Lactamases: What Really Matters. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00417>
- Bjørn Jensen, L., Lukic, I., & Gulis, G. (2018). The Delivery of Health Promotion and Environmental Health Services; Public Health or Primary Care Settings? *Healthcare*, 6(2). <https://doi.org/10.3390/healthcare6020042>
- Bozcal, E., Eldem, V., Aydemir, S., & Skurnik, M. (2018). The relationship between phylogenetic classification, virulence and antibiotic resistance of extraintestinal pathogenic Escherichia coli in İzmir province, Turkey. *PeerJ*, 6. <https://doi.org/10.7717/peerj.5470>

- Capett, M. S., Vollú-Silva, P., Melchiades, V. A., Bokehi, L. C., Araújo, F. M., Martins, I. S., Neves, F. P. G., Gonzalez, A. G. M., Oswald, E., de Paula, G. R., & Teixeira, L. A. (2016). Characterization of Ciprofloxacin-Resistant and Ciprofloxacin-Susceptible Uropathogenic *Escherichia coli* Obtained from Patients with Gynecological Cancer. *Current Microbiology*, 73(5), 624-632. <https://doi.org/10.1007/s00284-016-1104-y>
- Carvalho, I., Carvalho, J. A., Martínez-Álvarez, S., Sadi, M., Capita, R., Alonso-Calleja, C., Rabbi, F., Dapkevicius, M. de L. N. E., Igrejas, G., Torres, C., & Poeta, P. (2021). Characterization of ESBL-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Isolated from Clinical Samples in a Northern Portuguese Hospital: Predominance of CTX-M-15 and High Genetic Diversity. *Microorganisms*, 9(9), Art. 9. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9091914>
- CDC-Perú. (2019). *Centro Nacional de Epidemiologia, Prevencion y Control de Enfermedades*. https://www.dge.gob.pe/portal/index.php?option=com_content&view=article&id=398:infecciones-intrahospitalarias&catid=2:vigilancia-epidemiologica
- Cercenado E. (2015). Detección de enterobacterias productoras de carbapenemasas en la rutina del laboratorio. 28, 1, 4.
- Chakraborty, A., Adhikari, P., Shenoy, S., & Saralaya, V. (2015). Genomic analysis and clinical importance of *Escherichia coli* isolate from patients with sepsis. *Indian Journal of Pathology & Microbiology*, 58(1), 22-26. <https://doi.org/10.4103/0377-4929.151161>
- Chaudhuri, R. R., & Henderson, I. R. (2012). The evolution of the *Escherichia coli* phylogeny. *Infection, Genetics and Evolution*, 12(2), 214-226. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.01.005>

- Clermont, O., Christenson, J. K., Denamur, E., & Gordon, D. M. (2013). The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: Improvement of specificity and detection of new phylo-groups: A new *E. coli* phylo-typing method. *Environmental Microbiology Reports*, *5*(1), 58-65. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12019>
- Clermont, O., Couffignal, C., Blanco, J., Mentré, F., Picard, B., Denamur, E., & Groups, the C. and C. (2017). Two levels of specialization in bacteraemic *Escherichia coli* strains revealed by their comparison with commensal strains. *Epidemiology & Infection*, *145*(5), 872-882. <https://doi.org/10.1017/S0950268816003010>
- Clermont, O., Gordon, D., & Denamur, E. (2015). Guide to the various phylogenetic classification schemes for *Escherichia coli* and the correspondence among schemes. *Microbiology (Reading, England)*, *161*(Pt 5), 980-988. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000063>
- Cole, B. K., Ilikj, M., McCloskey, C. B., & Chavez-Bueno, S. (2019). Antibiotic resistance and molecular characterization of bacteremia *Escherichia coli* isolates from newborns in the United States. *PLoS ONE*, *14*(7), e0219352. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219352>
- Coura, F. M., de Araújo Diniz, S., Mussi, J. M. S., Silva, M. X., Lage, A. P., & Heinemann, M. B. (2017). Characterization of virulence factors and phylogenetic group determination of *Escherichia coli* isolated from diarrheic and non-diarrheic calves from Brazil. *Folia Microbiologica*, *62*(2), 139-144. <https://doi.org/10.1007/s12223-016-0480-9>
- Cross, A., Artenstein, A., Que, J., Fredeking, T., Furer, E., Sadoff, J. C., & Cryz, S. J. (1994). Safety and immunogenicity of a polyvalent *Escherichia coli* vaccine in

- human volunteers. *The Journal of Infectious Diseases*, 170(4), 834-840.
<https://doi.org/10.1093/infdis/170.4.834>
- Croxen, M. A., Law, R. J., Scholz, R., Keeney, K. M., Wlodarska, M., & Finlay, B. B. (2013). Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(4), 822-880.
<https://doi.org/10.1128/CMR.00022-13>
- Čurová, K., Slebodníková, R., Kmeťová, M., Hrabovský, V., Maruniak, M., Liptáková, E., & Siegfried, L. (2020). Virulence, phylogenetic background and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* associated with extraintestinal infections. *Journal of Infection and Public Health*, 13(10), 1537-1543.
<https://doi.org/10.1016/j.jiph.2020.06.032>
- Dahiana, G. L., Myrian, S., Leslie, D., & Sanabria, R. (2021). Frequency of Resistance of BLEE-Producing *Escherichia Coli* to the Antibiotic Ciprofloxacin in Patients with Urinary Tract Infections at St. Lawrence General Hospital, 2017-2018. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 25(7), Art. 7.
- Deku, J. G., Duedu, K. O., Kinanyok, S., Kpene, G. E., & Feglo, P. K. (2022). Phylogenicity and Virulence Profiles of Clinical *Escherichia coli* Isolates in the Ho Teaching Hospital of Ghana. *BioMed Research International*, 2022, e1347033. <https://doi.org/10.1155/2022/1347033>
- Denamur, E., Clermont, O., Bonacorsi, S., & Gordon, D. (2021). The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews. Microbiology*, 19(1), 37-54.
<https://doi.org/10.1038/s41579-020-0416-x>
- Diamant, E., Palti, Y., Gur-Arie, R., Cohen, H., Hallerman, E. M., & Kashi, Y. (2004). Phylogeny and Strain Typing of *Escherichia coli*, Inferred from Variation at

- Mononucleotide Repeat Loci. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(4), 2464-2473. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.4.2464-2473.2004>
- Dirar, M. H., Bilal, N. E., Ibrahim, M. E., & Hamid, M. E. (2020). Prevalence of extended-spectrum β -lactamase (ESBL) and molecular detection of blaTEM, blaSHV and blaCTX-M genotypes among Enterobacteriaceae isolates from patients in Khartoum, Sudan. *The Pan African Medical Journal*, 37, 213. <https://doi.org/10.11604/pamj.2020.37.213.24988>
- Fernández Cuenca, F., López Cerero, L., & Pascual Hernández, Á. (2013). Técnicas de tipificación molecular para la vigilancia y control de la infección. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 31, 20-25. [https://doi.org/10.1016/S0213-005X\(13\)70110-1](https://doi.org/10.1016/S0213-005X(13)70110-1)
- Fierro, B. H. (2004). *DECRETO 51/1997, DE 29 DE ABRIL, DE LA RED DE VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA DE CASTILLA-LA MANCHA*. 16(3), 16.
- Galindo-Méndez, M., & Galindo-Méndez, M. (2018). Caracterización molecular y patrón de susceptibilidad antimicrobiana de Escherichia coli productora de β -lactamasas de espectro extendido en infección del tracto urinario adquirida en la comunidad. *Revista chilena de infectología*, 35(1), 29-35. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182018000100029>
- García, C. S., de la Gándara, M. P., & García, F. J. C. (2010). Betalactamasas de espectro extendido en enterobacterias distintas de Escherichia coli y Klebsiella. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28, 12-18. [https://doi.org/10.1016/S0213-005X\(10\)70003-3](https://doi.org/10.1016/S0213-005X(10)70003-3)
- Gonzales, E., Patiño, L., Ore, E., Martínez, V., Moreno, S., Cruzado, N. B., Rojas, R., Quispe, M. del C., Carbonell, I., Villarreal, F., Maza, G., Olivo, J., Vicuña, R., & Bustamante, D. (2019). β -lactamasas de espectro extendido tipo CTX-M en

- aislamientos clÁ-nicos de Escherichia coli y Klebsiella pneumoniae en el Instituto Nacional de Salud del Niño-Breña, Lima, Perú. *Revista Medica Herediana*, 30(4), 242-248. <https://doi.org/10.20453/rmh.v30i4.3659>
- Gonzales Rodriguez, A. O., Pastor, H. J. B., Villafuerte, C. A. G., Barrón, Y. L. M. de, Miranda, D. V. H. C. de, & Cunza, S. S. (2019). Clasificación filogenética de Escherichia coli uropatógena y respuesta inmunometabólica en adultos mayores con infección urinaria en casas de reposo. *Archivos de Medicina (Col)*, 19(2), 238-246. <https://doi.org/10.30554/archmed.19.2.3334.2019>
- Gordon, D. M., Clermont, O., Tolley, H., & Denamur, E. (2008). Assigning Escherichia coli strains to phylogenetic groups: Multi-locus sequence typing versus the PCR triplex method: MLST versus Clermont method. *Environmental Microbiology*, 10(10), 2484-2496. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2008.01669.x>
- Gurung, S., Kafle, S., Dhungel, B., Adhikari, N., Thapa Shrestha, U., Adhikari, B., Banjara, M. R., Rijal, K. R., & Ghimire, P. (2020). Detection of OXA-48 Gene in Carbapenem-Resistant Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae from Urine Samples. *Infection and Drug Resistance*, 13, 2311-2321. <https://doi.org/10.2147/IDR.S259967>
- Haque, M., Sartelli, M., McKimm, J., & Abu Bakar, M. (2018). Health care-associated infections – an overview. *Infection and Drug Resistance*, 11, 2321-2333. <https://doi.org/10.2147/IDR.S177247>
- Hernández, E., Araque, M., Millán, Y., & Millán, B. (2014). Prevalencia de b-lactamasa CTX-M-15 en grupos filogenéticos de Escherichia coli uropatógena aisladas en pacientes de la comunidad en Mérida, Venezuela. 55, 13.
- Hojabri, Z., Mirmohammadkhani, M., Darabi, N., Arab, M., & Pajand, O. (2019). Characterization of antibiotic-susceptibility patterns and virulence genes of five

- major sequence types of *Escherichia coli* isolates cultured from extraintestinal specimens: A 1-year surveillance study from Iran. *Infection and Drug Resistance*, 12, 893-903. <https://doi.org/10.2147/IDR.S199759>
- Koirala, S., Khadka, S., Sapkota, S., Sharma, S., Khanal, S., Thapa, A., Khadka, D. K., & Poudel, P. (2021). Prevalence of CTX-M β -Lactamases Producing Multidrug Resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* among Patients Attending Bir Hospital, Nepal. *BioMed Research International*, 2021, 9958294. <https://doi.org/10.1155/2021/9958294>
- Lezameta, L., Gonzáles-Escalante, E., & Tamariz, J. H. (2010). Comparación de cuatro métodos fenotípicos para la detección de beta-lactamasas de espectro extendido. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 27(3), 345-351.
- Mahmoudi, H., Ghiasvand, S., Zarei, O., Hossainpour, H., & Alikhani, M. Y. (2020). Identification of Quinolone and Colistin Resistance Genes in *Escherichia Coli* Strains Isolated from Mucosal Samples of Patients with Colorectal Cancer and Healthy Subjects. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 15(1), 30-40. <https://doi.org/10.2174/1574891X14666190611125951>
- Marcos-Carbajal, P., Salvatierra, G., Yareta, J., Pino, J., Vásquez, N., Diaz, P., Martínez, I., Asmat, P., Peralta, C., Huamani, C., Briones, A., Ruiz, M., Laura, N., Luque, Á., Arapa, L., & Tsukayama, P. (2021). Caracterización microbiológica y molecular de la resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* uropatógenas de hospitales públicos peruanos. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 38, 119-123. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2021.381.6182>
- Marshall, B., J. Ochieng, D., & Levy, S. (2009). Commensals: Underappreciated Reservoir of Antibiotic Resistance. *Microbe*, 4, 231-238. <https://doi.org/10.1128/microbe.4.231.1>

- Matta-Chuquisapon, J., Valencia-Bazalar, E., Sevilla-Andrade, C., & Barrón-Pastor, H. J. (2022). Filogenia y resistencia de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido a los antibióticos en pacientes con cáncer hospitalizados en Perú. *Biomédica*, 42(3), Art. 3. <https://doi.org/10.7705/biomedica.6263>
- Milkman, R. (1973). Electrophoretic variation in *Escherichia coli* from natural sources. *Science (New York, N.Y.)*, 182(4116), 1024-1026. <https://doi.org/10.1126/science.182.4116.1024>
- Millán, Y., Araque, M., Ramírez, A., Millán, Y., Araque, M., & Ramírez, A. (2020). Distribución de grupos filogenéticos, factores de virulencia y susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Escherichia coli* uropatógena. *Revista chilena de infectología*, 37(2), 117-123. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182020000200117>
- Mohd Khari, F. I., Karunakaran, R., Rosli, R., & Tee Tay, S. (2016). Genotypic and Phenotypic Detection of AmpC β -lactamases in *Enterobacter* spp. Isolated from a Teaching Hospital in Malaysia. *PLoS ONE*, 11(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150643>
- Munkhdelger, Y., Gunregjav, N., Dorjpurev, A., Juniichiro, N., & Sarantuya, J. (2017). Detection of virulence genes, phylogenetic group and antibiotic resistance of uropathogenic *Escherichia coli* in Mongolia. *Journal of Infection in Developing Countries*, 11(1), 51-57. <https://doi.org/10.3855/jidc.7903>
- Navarro, F., Calvo, J., Cantón, R., Fernández-Cuenca, F., & Mirelis, B. (2011). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gramnegativos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29(7), 524-534. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.03.011>

- Nicolas-Chanoine, M.-H., Bertrand, X., & Madec, J.-Y. (2014). Escherichia coli ST131, an Intriguing Clonal Group. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(3), 543-574. <https://doi.org/10.1128/CMR.00125-13>
- Pana, Z. D., & Zaoutis, T. (2018). Treatment of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae (ESBLs) infections: What have we learned until now? *F1000Research*, 7, F1000 Faculty Rev-1347. <https://doi.org/10.12688/f1000research.14822.1>
- Pompilio, A., Crocetta, V., Savini, V., Petrelli, D., Di Nicola, M., Bucco, S., Amoroso, L., Bonomini, M., & Di Bonaventura, G. (2018). Phylogenetic relationships, biofilm formation, motility, antibiotic resistance and extended virulence genotypes among Escherichia coli strains from women with community-onset primitive acute pyelonephritis. *PLoS ONE*, 13(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196260>
- Poolman, J. T., & Wacker, M. (2016). Extraintestinal Pathogenic Escherichia coli, a Common Human Pathogen: Challenges for Vaccine Development and Progress in the Field. *The Journal of Infectious Diseases*, 213(1), 6-13. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv429>
- Quiroz, C. B. B. (2013). *Aislamiento y caracterización de cepas de Escherichia coli productor de shigatoxina desde carne de vacuno nacional e importada distribuida en los principales supermercados de la provincia de Santiago.*
- R: The R Project for Statistical Computing.* (2020). <https://www.r-project.org/>
- Ranjbar, R., Nazari, S., & Farahani, O. (2020). Phylogenetic Analysis and Antimicrobial Resistance Profiles of Escherichia coli Strains Isolated from UTI-Suspected Patients. *Iranian Journal of Public Health*, 49(9), 1743-1749. <https://doi.org/10.18502/ijph.v49i9.4094>

- Rivera-Jacinto, M., Rodríguez-Ulloa, C., Flores Clavo, R., Serquén López, L., & Arce Gil, Z. (2015). Betalactamasas de espectro extendido tipo TEM y CTX-M en *Klebsiella spp* y *Escherichia coli* aisladas de superficies de ambientes hospitalarios. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 32(4), 752-755.
- Rodríguez-Navarro, J., Miró, E., Brown-Jaque, M., Hurtado, J. C., Moreno, A., Muniesa, M., González-López, J. J., Vila, J., Espinal, P., & Navarro, F. (2020). Comparison of Commensal and Clinical Isolates for Diversity of Plasmids in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 64(5), e02064-19. <https://doi.org/10.1128/AAC.02064-19>
- Rojas, M., & Valle, D. D. (2009). Betalactamasas tipo AmpC: Generalidades y métodos para detección fenotípica. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 29(2), 78-83.
- Russo, T. A., & Johnson, J. R. (2003). Medical and economic impact of extraintestinal infections due to *Escherichia coli*: Focus on an increasingly important endemic problem. *Microbes and Infection*, 5(5), 449-456.
- Sader, H. S., Jones, R. N., Andrade-Baiocchi, S., Biedenbach, D. J., & SENTRY Participants Group (Latin America). (2002). Four-year evaluation of frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility patterns of bacteria from bloodstream infections in Latin American medical centers. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 44(3), 273-280. [https://doi.org/10.1016/s0732-8893\(02\)00469-8](https://doi.org/10.1016/s0732-8893(02)00469-8)
- Salvador-Luján, G., García-de-la-Guarda, R., & Gonzales-Escalante, E. (2018). Caracterización de metalo- β -lactamasas en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* recuperados de pacientes hospitalizados en el Hospital Militar Central.

- Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 35(4), Art. 4.
<https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.354.3755>
- Sarowska, J., Futoma-Koloch, B., Jama-Kmiecik, A., Frej-Madrzak, M., Ksiazczyk, M., Bugla-Ploskonska, G., & Choroszy-Krol, I. (2019). Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: Recent reports. *Gut Pathogens*, 11.
<https://doi.org/10.1186/s13099-019-0290-0>
- Seral C., C. J. (2012). *Emergencia de betalactamasas AmpC plamídicas (pAmpC o cefamicinasas): Origen, importancia, detección y alternativas terapéuticas*. 25(2), 10.
- Shokouhi Mostafavi, S. K., Najar-Peerayeh, S., Mohabbati Mobarez, A., & Kardoust Parizi, M. (2019). Serogroup distribution, diversity of exotoxin gene profiles, and phylogenetic grouping of CTX-M-1- producing uropathogenic *Escherichia coli*. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 65, 148-153.
<https://doi.org/10.1016/j.cimid.2019.05.003>
- Singh, A., Goering, R. V., Simjee, S., Foley, S. L., & Zervos, M. J. (2006). Application of Molecular Techniques to the Study of Hospital Infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(3), 512-530. <https://doi.org/10.1128/CMR.00025-05>
- Somboro, A. M., Osei Sekyere, J., Amoako, D. G., Essack, S. Y., & Bester, L. A. (2018). Diversity and Proliferation of Metallo- β -Lactamases: A Clarion Call for Clinically Effective Metallo- β -Lactamase Inhibitors. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(18). <https://doi.org/10.1128/AEM.00698-18>
- Stoppe, N. de C., Silva, J. S., Carlos, C., Sato, M. I. Z., Saraiva, A. M., Ottoboni, L. M. M., & Torres, T. T. (2017). Worldwide Phylogenetic Group Patterns of *Escherichia coli* from Commensal Human and Wastewater Treatment Plant

- Isolates. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2512.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02512>
- Suárez-Ognio, D. L. A. (2003). *Oficina General de Epidemiología Red Nacional de Epidemiología Ministerio de Salud*. 95.
- Tejada-Llacsá, P. J., Huarcaya, J. M., Melgarejo, G. C., Gonzales, L. F., Cahuana, J., Pari, R. M., Bohorquez, H. L., & Chacaltana, J. (2015). Caracterización de infecciones por bacterias productoras de BLEE en un hospital de referencia nacional. *Anales de la Facultad de Medicina*, 76(2), 161-166.
<https://doi.org/10.15381/anales.v76i2.11143>
- Tekeli, A., Dolapci, İ., Evren, E., Oguzman, E., & Karahan, Z. C. (2020). Characterization of *Klebsiella pneumoniae* Coproducing KPC and NDM-1 Carbapenemases from Turkey. *Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)*, 26(2), 118-125.
<https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0086>
- Tenaillon, O., Skurnik, D., Picard, B., & Denamur, E. (2010). The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nature Reviews. Microbiology*, 8(3), 207-217.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro2298>
- van Boxtel, R., Wattel, A. A., Arenas, J., Goessens, W. H. F., & Tommassen, J. (2016). Acquisition of Carbapenem Resistance by Plasmid-Encoded-AmpC-Expressing *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61(1), e01413-16.
<https://doi.org/10.1128/AAC.01413-16>
- Velázquez-Acosta, C., Cornejo-Juárez, P., & Volkow-Fernández, P. (2018). Cepas E-ESKAPE multidrogorresistentes aisladas en hemocultivos de pacientes con cáncer. *Salud Pública de México*, 60, 151-157. <https://doi.org/10.21149/8767>

- Whittam, T. S., Caugant, D. A., & Selander, R. K. (1987). *Genetic structure and variation in natural populations of Escherichia coli. Escherichia coli and Salmonella typhimurium. 2.*
- Whittam, T. S., Ochman, H., & Selander, R. K. (1983). Multilocus genetic structure in natural populations of Escherichia coli. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 80(6), 1751-1755.
- Wiener, E. S., Heil, E. L., Hynicka, L. M., & Johnson, J. K. (2016). Are Fluoroquinolones Appropriate for the Treatment of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Gram-Negative Bacilli? *The Journal of pharmacy technology: jPT: official publication of the Association of Pharmacy Technicians*, 32(1), 16-21.
<https://doi.org/10.1177/8755122515599407>

ANEXOS

Anexo 1: Protocolo de PCR para la determinación de grupos filogenéticos (basado en el protocolo de Clermont et al)

Reactivos	[μ] Inicial	[μ] final	vol. final 1 Rx
Buffer [X]	10	1	2,5 uL
MgCl ₂ [mM]	50	1,5	0,5 uL
dNTPs [mM]	10	0,2	0,5 uL
chuA-f [uM/uL]	100 uM/uL	20	0.2
chuA-r [uM/uL]	100 uM/uL	20	0.2
yjaA-f [uM/uL]	100 uM/uL	20	0.2
yjaA-r [uM/uL]	100 uM/uL	20	0.2
TspE4.C2 - f[uM/uL]	100 uM/uL	20	0.2
TspE4.C2 - r [uM/uL]	100 uM/uL	20	0.2
arpA-f [uM/uL]	100 uM/uL	40	0.4
arpA-r [uM/uL]	100 uM/uL	40	0.4
<i>Taq</i> [U/uL]	5 U/uL	0,5U/uL	0,1 uL
H ₂ O PCR	-	-	19,9 u L
DNA	-	-	3 uL
			Vol. final: 20 uL

Anexo 2: Ficha de recolección de datos

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DE AISLAMIENTOS DE <i>Escherichia coli</i> de pacientes hospitalizados en el INEN				
Código		Servicio/consultorio		
Edad		Sexo		
Tipo de muestra		Tipo de aislamiento		
Antibiograma:		Clasificación según CLSI-2018		
	Halo mm	S	I	R
Amikacina 30 ug				
Gentamicina 10 ug				
Ciprofloxacino 5 ug				
Imipenem 10 ug				
Meropenem 10 ug				
Genes de resistencia	SI	NO		
blaKPC				
blaNDM				
blaCTX-M				
PCR	SI	NO		
<i>chuA</i>				
<i>yjaA</i>				
TspE4.C2				
arpA				

Anexo 3:

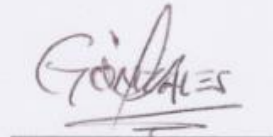
DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO DE USO DE MATERIAL BIOLÓGICO PARA ESTUDIOS DE
INVESTIGACIÓN

Lima, 06 de Diciembre de 2019

Yo, Edgar Gonzales Escalante, identificado con DNI N° 10663767 , y Joan Neyra Quijandría, identificado con DNI N° 10280834, investigadores principales del proyecto "Vigilancia epidemiológica de bacterias resistentes en infecciones asociadas a la atención en salud en los servicios de hospitalización del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN)", autorizamos al Sr. Jose Fernando Matta Chuquisapon, como maestrando en epidemiología, identificado con código 18017253, para que pueda hacer uso del cepario obtenido del proyecto mencionado anteriormente, que está almacenado en el Laboratorio de Epidemiología Molecular y Genética –LEMYG perteneciente al Centro de Investigaciones Biomédicas, Tecnológicas y Medioambientales – CITBM - UNMSM, para la realización de la tesis de maestría titulada **"COMPARACIÓN DE GRUPOS FILOGENÉTICOS Y GENES DE RESISTENCIA A BETALACTÁMICOS DE *Escherichia coli* ENTRE AISLAMIENTOS DE MUESTRAS CLÍNICAS Y COLONIZANTES INTESTINALES - Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas 2017"**.



Dr. Joan Neyra Quijandría



Mg. Edgar Gonzales Escalante