



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Facultad de
MEDICINA

IDENTIFICACIÓN DE LOS GENES DE RESISTENCIA
ANTIMICROBIANA A QUINOLONAS TRANSMITIDOS POR
PLÁSMIDOS EN AISLAMIENTOS DE ESCHERICHIA COLI
PROVENIENTES DE PACIENTES HOSPITALIZADOS CON INFECCIÓN
URINARIA DURANTE EL 2024

IDENTIFICATION OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE GENES TO
QUINOLONES TRANSMITTED BY PLASMIDS IN ESCHERICHIA COLI
ISOLATES FROM HOSPITALIZED PATIENTS WITH URINARY TRACT
INFECTION DURING 2024

TRABAJO ACADÉMICO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE SEGUNDA
ESPECIALIDAD PROFESIONAL EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

AUTORA

JOSSELYN HEIDY MANRIQUE MEZA

ASESOR

LIDIO EDGAR NEYRA VALDEZ

LIMA – PERÚ

2024

ASESOR DE TRABAJO ACADÉMICO

ASESOR

MSc. Lidio Edgar Neyra Valdez

Departamento Académico de Medicina

ORCID: 0000-0003-2086-7245

Fecha de Aprobación: 1 de octubre del 2024

Calificación: Aprobado

DEDICATORIA

A mis padres y hermana quienes me brindaron su apoyo incondicional en todo momento y han sido mi mayor motivación para poder superarme y así poder lograr mis anhelos para tener un futuro mejor.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la salud e iluminar mis conocimientos y darme la fuerza que necesito para culminar con la elaboración de este proyecto.

A la Universidad CAYETANO HEREDIA por habernos preparado con ética y responsabilidad. A nuestros profesores por compartir sus conocimientos y motivarnos para continuar en el campo del diagnóstico microbiológico con la finalidad de apoyar a nuestros pacientes.

En especial a la MSc. Edgar Neyra Valdez, por su atenta colaboración, por sus comentarios y sus acertadas correcciones en la elaboración de este proyecto.

A mi familia por haber fomentado en mí el deseo de superación y el anhelo de triunfo en la vida. A mis amigas y compañeros y a todas aquellas personas que de una u otra manera han contribuido para el logro de mis objetivos.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS

El autor declara que el trabajo académico presentado es original, que se han seguido los lineamientos respectivos para respetar la ética en investigación y que el mismo será utilizado para optar por el Título de Segunda Especialidad profesional en microbiología clínica.

RESULTADO DEL INFORME DE SIMILITUD



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Facultad de
MEDICINA

IDENTIFICACIÓN DE LOS GENES DE RESISTENCIA
ANTIMICROBIANA A QUINOLONAS TRANSMITIDOS POR
PLÁSMIDOS EN AISLAMIENTOS DE ESCHERICHIA COLI
PROVENIENTES DE PACIENTES HOSPITALIZADOS CON INFECCIÓN
URINARIA DURANTE EL 2024

IDENTIFICATION OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE GENES TO
QUINOLONES TRANSMITTED BY PLASMIDS IN ESCHERICHIA COLI
ISOLATES FROM HOSPITALIZED PATIENTS WITH URINARY TRACT
INFECTION DURING 2024

TRABAJO ACADÉMICO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE SEGUNDA
ESPECIALIDAD PROFESIONAL EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

AUTORA

JOSSELYN HEIDY MANRIQUE MEZA

ASESOR

LIDIO EDGAR NEYRA VALDEZ

LIMA - PERÚ

2024

22% Similitud estándar Filtros

Fuentes Mostrar las fuentes solapadas

1 Internet	repositorio.continental.edu.pe	3%
3 bloques de texto 109 palabra que coinciden		
2 Internet	www.dspace.uce.edu.ec	3%
6 bloques de texto 106 palabra que coinciden		
3 Internet	tdx.cat	1%
2 bloques de texto 43 palabra que coinciden		

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN

ABSTRACT

I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVO.....	9
Objetivo general	9
Objetivos específicos	9
III. MATERIAL Y MÉTODO	10
IV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	16
V. ANEXOS	22

RESUMEN

Las infecciones del tracto urinario (ITU) se consideran una de las más frecuentes de las infecciones nosocomiales, el principal agente asociado a ITU es *Escherichia coli* y la catalogan entre los seis patógenos más preocupantes a nivel mundial, en los últimos años se han registrado un incremento notable de resistencia antimicrobiana (RAM), debido que a lo largo del tiempo se ha incrementado su resistencia a través de varios mecanismos y esto se debe al uso masivo e irracional de antibióticos. La OMS ha declarado RAM entre las 10 principales amenazas de salud pública pues se ha convertido en uno de los problemas a nivel mundial que dificulta el tratamiento de las infecciones, aumenta la morbilidad y el gasto económico que esto implica, en los últimos años se ve un incremento notable de resistencia a quinolonas que se ha diseminado por el mundo y en los últimos años se ha encontrado resistencia codificados en los plásmidos, el presente trabajo nos ayudara a mejorar y desarrollar mejores estrategias de control y manejo de RAM.

Objetivo: Identificar los genes de resistencia antimicrobiana a quinolonas transmitidos por plásmidos en aislamientos de *Escherichia coli* provenientes de pacientes hospitalizados con infección urinaria durante el 2024. **Materiales y**

Métodos: estudio cuantitativo, observacional, descriptivo, transversal y retrospectivo, cuya población de estudio será todos los aislamientos de *E. coli* resistentes a quinolonas provenientes de urocultivos en pacientes adultos hospitalizados durante el 2024.

Palabras claves: infección del tracto urinario, *Escherichia coli*, Quinolonas RAM, Plásmidos, genes de resistencia.

ABSTRACT

Urinary tract infections (UTIs) are considered one of the most common nosocomial infections, with *Escherichia coli* being the primary agent associated with UTIs. They are classified among the six most concerning pathogens worldwide. In recent years, there has been a notable increase in antimicrobial resistance (AMR), as resistance has escalated over time through various mechanisms, primarily due to the massive and irrational use of antibiotics. The WHO has declared AMR as one of the top 10 global health threats, as it has become one of the major issues worldwide that complicates the treatment of infections, increases morbidity, and escalates the associated economic costs. In recent years, there has been a notable increase in resistance to quinolones, which has spread globally. Additionally, resistance has been found to be encoded on plasmids. This study aims to improve and develop better strategies for the control and management of AMR. **Objective:** To identify the plasmid-mediated antimicrobial resistance genes to quinolones in isolates of *Escherichia coli* from hospitalized patients with urinary infections during 2024. **Materials and Methods:** A quantitative, observational, descriptive, cross-sectional, and retrospective study, with the study population consisting of all *E. coli* isolates resistant to quinolones from urine cultures of hospitalized adult patients during 2024.

Keywords: urinary tract infection, *Escherichia coli*, quinolone AMR, plasmids, resistance genes.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, las infecciones del tracto urinario (ITU) representan un problema de salud pública a nivel mundial, se estima que cada año más de 150 millones de personas adquieren Infección de Tracto Urinario (ITU) (1). En Europa, cada año, 4 millones de personas son diagnosticadas con ITU, de las cuales el 40% son infecciones intrahospitalarias y son el principal reservorio de patógenos resistentes (2). Sin embargo, hay poca información disponible sobre la vigilancia epidemiológica de infecciones del tracto urinario (ITU) en el Perú, se calcula que el 19% de las ITU intrahospitalaria está vinculada al uso de catéteres.(3)

Una de las infecciones nosocomiales más frecuentes son las infecciones del tracto urinario (ITU) y la consideran la segunda infección más frecuente en consulta externa (4). Se estima que anualmente llega al servicio de emergencia 1 millón de casos por ITU y casi 7 millones de visitas por consulta externa, lo que genera más de 100000 hospitalizaciones al año, solo en Estados Unidos se calculó un costo anual de \$ 1.6 mil millones para el manejo de ITU (5). Existen diversos factores causantes de las ITU, así como el sexo, la edad, padecer alguna enfermedad, el uso de catéter, presencia de trastornos funcionales o anatómicos del tracto urinario (6) (7).

La responsable de la mayoría de las ITU es la *Escherichia coli* (6), se calcula que es el causante de más del 75% de los casos recurrentes y a su vez se calcula que entre 70 a 95% de casos de cistitis y pielonefritis no complicadas es causada por la *E.coli* (8). Se cataloga a la *E. coli* entre los seis patógenos más preocupantes a nivel mundial (2).

A nivel de Perú, se realizó un estudio en el Hospital Cayetano Heredia donde reportaron que el 49.01% (99/202) de los urocultivos procedentes de pacientes hospitalizados fueron identificados como *E. coli* (9).

Escherichia coli pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, es un bacilo gram negativo anaerobio facultativo, no formadores de esporas, con flagelos peritricos, catalasa positiva, fermenta la glucosa y lactosa con producción de gas (10).

La OMS ha declarado que la resistencia antimicrobiana (RAM) entre las 10 principales amenazas de salud pública pues se ha convertido en uno de los problemas a nivel mundial que dificulta el tratamiento de las infecciones, aumenta la morbilidad y también se incrementa las estancias prolongadas incrementando el gasto económico (11). La Sociedad Argentina de infectología y otras Sociedades Científicas mencionan que en los últimos años se han registrado un incremento notable de resistencia antimicrobiana (12). Diversos factores han acelerado la evolución de la resistencia a los antimicrobianos (RAM), siendo el uso excesivo y erróneo de los antibióticos uno de los más relevantes. Tanto en la medicina humana como en la veterinaria, el uso generalizado de estos medicamentos ha jugado un papel crucial en la aparición de bacterias resistentes. Cuando los antibióticos se emplean sin control, eliminan a las bacterias sensibles, pero permiten que sobrevivan y se multipliquen aquellas que han desarrollado o adquirido mecanismos de resistencia. (11) La evolución de la RAM está impulsada por mutaciones genéticas espontáneas y la adquisición de genes de resistencia a través de mecanismos de transferencia horizontal, como la conjugación,

transducción o transformación. Cuando las bacterias están expuestas a antibióticos, aquellas con mutaciones que las hacen resistentes tienen una ventaja selectiva y pueden proliferar, mientras que las bacterias susceptibles son eliminadas. Esto da lugar a la aparición de cepas resistentes. (13)

Mientras que la ITU continúa siendo una de las razones más frecuentes de prescripción de antimicrobianos. Los antibióticos más usados son β -lactámicos, trimetoprima, nitrofurantoína y quinolonas, con la globalización y el uso irracional de los antibióticos en los últimos años se ve un crecimiento importante de resistencia a estos (14).

En los últimos años se ha evidenciado un aumento en el uso de los antibióticos como las quinolonas para el tratamiento de diversas enfermedades como infecciones de las vías urinarias y respiratorias debido a ser un antibiótico de amplio espectro (15). Los plásmidos juegan un papel fundamental en la transmisión de genes de resistencia antimicrobiana (RAM) y representan una de las principales vías a través de las cuales las bacterias adquieren y diseminan la resistencia (16). Los plásmidos son fragmentos de ADN extracromosómico que pueden replicarse de forma independiente y transferirse entre bacterias, incluso entre especies distintas, lo que acelera la propagación de genes de resistencia. La transferencia horizontal de genes es un proceso mediante el cual las bacterias pueden adquirir genes, como los que otorgan resistencia a antibióticos, de una manera más rápida y eficiente que mediante simples mutaciones genéticas. Los plásmidos juegan un papel clave en este proceso, y hay tres mecanismos principales a través de los cuales se lleva a cabo la transferencia

horizontal de genes: Conjugación, transformación y transducción. Este intercambio genético es un factor importante en la propagación de la resistencia bacteriana. (17)

Las quinolonas son un grupo de antibióticos sintéticos que actúa contra una amplia gama de bacterias patógenas, se utilizan para el tratamiento de diferentes enfermedades infecciosas asociadas a *Enterobacteriaceae* (18). Las quinolonas ejercen sus acciones antimicrobianas a través de la inhibición de la ADN girasa y la topoisomerasa IV, durante los últimos años el uso excesivo de quinolonas contra diversas infecciones tanto en la salud humana como en la ganadería han generado el aumento y la aparición de cepas bacterianas resistentes (19). La resistencia a quinolonas es más frecuente en enterobacterias que presentan resistencia a betalactámicos por producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), dada su estructura sintética de las quinolonas, en un inicio consideraron que el único mecanismo de resistencia podría ser cromosómicas, sin embargo, en los últimos años se ha encontrado resistencia codificados en los plásmidos. (14). Por ejemplo, las quinolonas son usadas para tratar infecciones causadas por *Escherichia coli*, sin embargo, las *E. coli* causan rápidamente resistencia a las quinolonas y se pueden propagar ampliamente (20) (21). En la actualidad se conoce que *E. coli* presenta una co-resistencia hacia antibióticos β -lactámicos y quinolonas, por esa razón existe una gran preocupación en la diseminación a otros géneros de bacterias gram negativas que podría agravar el problema en la salud pública y en el tratamiento de las infecciones (22).

Panamá T. y; Gallegos J; realizaron un trabajo de investigación en Bolivia en el 2021, donde reportaron que existe resistencia a diferentes antimicrobianos, donde obtuvieron una muestra de 330 urocultivos positivos para *E. coli*, de los cuales encontraron que el 26.67% (88/330) fueron resistentes a Ciprofloxacino, así mismo evidenciaron que 54.4% (180/330) de los uropatogenos fueron de pacientes adultos, mientras que el 25.3% (84/330) pertenecieron a adultos mayores (23).

Medina D. y; García F. en México realizaron un trabajo de investigación en el 2021 donde analizaron 214 urocultivos y demuestran que el agente más frecuente causante de ITU es *Escherichia coli* y presentan resistencia a quinolonas en un 60.9% (130/214) (24). A si mismo los autores Marcos et al (25), realizaron un trabajo de investigación en el Perú en el 2021 donde incluyeron a 70 pacientes con ITU por *E. coli* confirmada, de los cuales detectaron niveles altos de resistencia a ciprofloxacino en un 52 (74,3%).

A lo largo del tiempo, las bacterias han desarrollado una variedad de mecanismos de resistencia. Los plásmidos, que son moléculas circulares de ADN extracromosómicas con capacidad de replicación autónoma, se encuentran ampliamente distribuidos en la mayoría de las bacterias. Estos plásmidos proporcionan a las bacterias una ventaja adicional que, en situaciones adversas, puede conferir cierta ventaja adaptativa a la célula hospedadora. Los plásmidos son reconocidos como importantes impulsores de la diseminación de genes de resistencia a antimicrobianos a nivel mundial, dado que son elementos genéticos móviles con la capacidad de adquirir y mantener una

diversidad de genes, así como de transmitirlos horizontalmente. Dentro de la familia Enterobacteriaceae, se ha identificado a especies como *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* como microorganismos de prioridad crítica debido a su creciente detección como bacterias multirresistentes. Además, estas especies son agentes causales frecuentes de infecciones tanto oportunistas como nosocomiales. En este contexto, las betalactamasas, enzimas responsables de la resistencia a agentes betalactámicos, representan uno de los mecanismos de resistencia más ampliamente difundidos a través de elementos genéticos móviles como los plásmidos en esta familia bacteriana. (26)

Diversos estudios indican altos porcentajes de resistencia a quinolonas que se ha diseminado a por el mundo, el presente trabajo nos ayudara a mejorar y desarrollar mejores estrategias de control y manejo de RAM en nuestro país es importante dar un enfoque epidemiológico molecular y es necesario realizar políticas de tratamiento adecuada para combatir el alarmante aumento de resistencia a los medicamentos (27) (28).

Es fundamental estudiar los genes de resistencia a quinolonas en *Escherichia coli*, ya que la resistencia bacteriana representa un desafío cada vez mayor. Las quinolonas son antibióticos de amplio espectro empleados en el tratamiento de infecciones, están perdiendo efectividad debido al incremento de cepas resistentes de *E. coli*. Este

problema se ha intensificado por el uso indiscriminado y excesivo de antibióticos. El incremento de la resistencia a quinolonas en *Escherichia coli* ha alcanzado niveles alarmantes, y su agravante principal es la presencia de genes de resistencia en plásmidos. Estos elementos genéticos móviles permiten la transferencia horizontal de genes entre diferentes cepas bacterianas, acelerando la diseminación de resistencia dentro de poblaciones bacterianas y entre especies. A diferencia de las mutaciones cromosómicas, que ocurren de manera gradual, los plásmidos facilitan la propagación rápida y simultánea de múltiples genes de resistencia, lo que conduce a la aparición de bacterias multirresistentes. Esto no solo compromete la eficacia de las quinolonas, sino que reduce drásticamente las opciones terapéuticas disponibles. (17)

Por lo expuesto, la importancia del estudio reside en identificar los genes de resistencia antimicrobiana a quinolonas transmitidos por plásmidos en aislamientos de *E. coli* en pacientes que se encuentran hospitalizados en el Hospital Nacional Ramiro Priale Priale – ESSALUD.

El Hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé (HNRPP), está ubicado geográficamente en la ciudad de Huancayo, Distrito de El Tambo, Provincia de Huancayo, Departamento de Junín y depende funcionalmente de la Red Asistencial Junín del Seguro Social de Salud (EsSalud). El HNRPP cuenta con algunos servicios especializados diferenciados, por lo que resuelve y atiende las necesidades de salud integral y especializada de su población adscrita. Es el hospital base de la Red Asistencial de Junín - EsSalud, con treinta y cuatro años al servicio de la población

asegurada de la Región de Junín y La Macro Región Centro del país. El establecimiento cuenta con una cartera de servicios médicos en sus diversas especialidades y subespecialidades clínicas y quirúrgicas, así como Unidad de Trasplante y Procura de órganos, servicios de áreas críticas como Emergencia, UCI, UCIT de neonatales y adultos, diversos servicios de consultorio externo. (29)

Los resultados del presente estudio contribuirán con conocimiento actualizado en la identificación de genes de *E. coli* productoras de resistencia a quinolonas transmitidas por plásmidos, así mismo será un aporte para la vigilancia internacional para el registro sistemático de la resistencia a quinolonas transmitidas por plásmidos con la finalidad de conocer la frecuencia y tendencias para tomar acciones de control y prevención, así poder evitar el uso irracional y excesivo de fármacos que favorece al aumento de las bacterias resistentes e incrementa su propagación, ocasionando los fracasos terapéuticos y será una evidencia para la realización del plan multisectorial para contrarrestar los RAM, contribuyendo en la vigilancia epidemiológica del RAM, los resultados que permitirán también a generar nuevos estudios y mejorar los esquemas de tratamiento. La OMS, propone realizar una vigilancia a las enterobacterias como *E.coli*, porque presentan una elevada resistencia a las quinolonas ya que son uno de los antibióticos más eficaces para el tratamiento de infecciones causadas por *E. coli*, sin embargo, las *E. coli* causan rápidamente resistencia a las quinolonas y se propaga ampliamente.

No existe marcadores fenotípicos claros para reconocerlos y su detección debe hacerse por métodos moleculares. En los últimos años se ha observado que algunas

enterobacterias presentan sensibilidad disminuida a las fluoroquinolonas siendo sensible a ácido nalidíxico, situación que en muchos casos se ha relacionado con la presencia de genes plasmídicos de resistencia a quinolonas. Diversos estudios mencionan que los resultados de sensibilidad al ácido nalidíxico y ciprofloxacino son suficientes para el estudio de mecanismos de resistencia a quinolonas en enterobacterias. (30)

Por lo descrito, la formulación del problema se representa mediante la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuáles son los genes de resistencia antimicrobiana a quinolonas transmitidos por plásmidos en aislamientos de *Escherichia coli* provenientes de pacientes hospitalizados con infección urinaria durante el 2024?

II. OBJETIVOS

Objetivo general

Identificar los genes de resistencia antimicrobiana a quinolonas transmitidos por plásmidos en aislamientos de *Escherichia coli* provenientes de pacientes hospitalizados con infección urinaria durante el 2024.

Objetivos específicos

1. Determinar la frecuencia *Escherichia coli* con resistencia a quinolonas en pacientes hospitalizados con infección urinaria durante el 2024.

2. Identificar la frecuencia de los genes *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD*, *qnrS* y *qnrVC* ; en aislamiento de *Escherichia coli* en pacientes hospitalizados durante el 2024.

III. MATERIAL Y MÉTODO

El presente estudio será cuantitativo, observacional, descriptivo, transversal y prospectivo. Se utilizará una ficha de recolección de datos, donde la población del estudio será todos los aislamientos de *E. coli* resistentes a quinolonas provenientes de urocultivos en pacientes adultos hospitalizados en áreas de geriatría, medicina interna, unidad de cuidado intensivo, oncología, cirugía, medicina especializada, urología, ginecología, observación, traumatología del Hospital Nacional Ramiro Priale Priale durante el 2024. Según los datos estadísticos del Servicio de Patología clínica del HNRP, durante el 2023 el laboratorio de microbiología recibió 8458 muestras para urocultivo de las cuales se aislaron 5200 cepas *E. coli* y de las cuales 1495 fueron cepas de *E. coli* resistentes a quinolonas es decir a la ciprofloxacina y/o norfloxacina.

Los criterios que se utilizarán para definir la población son:

4.2.1 Criterios de inclusión

- Aislamiento de *Escherichia coli* resistentes a quinolonas (ciprofloxacina y/o norfloxacina), provenientes de urocultivos positivos.
- Aislamiento de *Escherichia coli* provenientes de áreas de hospitalización; como medicina interna, oncología, ginecología, medicina especializada,

cirugía, traumatología, unidad de cuidados intensivos, unidad de cuidados intermedios, observación – emergencia, traumatología.

4.2.2 Criterios de exclusión

- Aislamiento de *E. coli* sin identificación o codificación
- Aislamiento de *E. coli* sensibles a quinolonas, betalactámicos, aminoglucósidos, glucopéptidos, macrólidos.
- Aislamiento de *E. coli* provenientes al área de consultorio externo.
- Aislamiento de *E. coli* provenientes de pacientes menores de 18 años.

a. Muestra

El tamaño de muestra serán toda la población de estudio.

b. Procedimientos y técnicas

Aislamiento Bacteriano

Durante el 2024 se recuperarán aislamientos clínicos de *E. coli* a partir de muestras de orina de pacientes hospitalizados con ITU. Solo se trabajará una cepa por paciente. Los urocultivos serán procesadas por métodos convencionales y se incluyeron las muestras con cuenta viable $>10^5$ UFC/ml.

Se picará una colonia de muestras positivas para ITU y se colocará en agar peptona, para luego realizar la identificación y sensibilidad por medio automatizado y realizar el control de la sensibilidad por método de Kirby-Bauer.

Almacenamiento de cepas en peptona

Se picará una colonia de muestras positivas para ITU resistentes a quinolonas y se colocará en agar peptona que es un medio no selectivo es favorable para las bacterias debido que esta enriquecido con nutrientes, permite su preservación por un largo tiempo sin requerir refrigeración.

Reactivación de cepas en agar Mc CONKEY

El agar Mc CONKEY es un medio selectivo y diferencial para bacterias gram negativas, y las bacterias serán almacenadas en peptona se reactivan en un medio selectivo como este. Dentro de su composición tiene lactosa e indicador rojo fenol, las bacterias lactosa positiva como la *E. coli* forman colonias color rosado.

Identificación microbiológica.

Las colonias aisladas de placas significativas se identificarán mediante el método automatizado Vitek® 2 compact, las pruebas de sensibilidad, por el sistema de AST N271 (equipo Vitek® 2 compact), que emplea tarjetas de reactivo colorimétrico para GN se utiliza para identificación de bacilos gramnegativos fermentadores y no fermentadores, que se incuban e interpreta automáticamente, se utilizara la cepa de referencia de *E. coli* ATCC 25922.

Identificación fenotípica de resistencia a quinolona

El análisis de susceptibilidad de las cepas aisladas de *E. coli* a antibióticos se realizará mediante el método de Kirby-Bauer de difusión en agar, siguiendo las indicaciones del Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI). Se

utilizarán discos que contienen los antibióticos de ácido nalidixico, ciprofloxacino. Y para control de calidad del ensayo se usara para *E. coli* ATCC 25922.

Extracción de DNA

A partir de una resiembra de las colonias puras en el medio de cultivo sólido agar Mueller-Hinton, se realizará la extracción del ADN total en todos los aislamientos según el siguiente protocolo, basado en la centrifugación y en un proceso de choque térmico, la concentración de ADN se determinó midiendo la absorbancia a 260/280nm y 260/230nm en un espectrofotómetro Nanodrop, cada muestra será almacenada a 4°C hasta su análisis por PCR.

Identificación molecular de resistencia a quinolonas trasmitidos por plásmidos

Identificación del gen *uidA* que permite confirmar la identificación como *E. coli*.

Identificación de los genes *qnr* (A, B, C, D, S, VC); se determinará a partir del ADN mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), empleando cebadores específicos para los genes mencionados: (Tabla N°1)

Tabla 1. Secuencias de cebadores de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección de genes de resistencia a quinolonas en *E. coli*.

Gen	Secuencias de cebadores de oligonucleótidos (5' a 3')	Tamaño del fragmento (pb)	REFERENCIA
------------	--	----------------------------------	-------------------

	F 5- ATGGAATTTTCGCCGATTTTGC - 3	168	(34)
<i>uidA</i>	R 5- ATTGTTTGCCTCCCTGCTGC -3		
	F 5- AGAGGATTTCTCACGCCAGG-3	580	(35)
<i>qnrA</i>	R 5- TGCCAGGCACAGATCTTGAC-3		
	F 5- GGMATHGAAATTCGCCACTG-3	264	(35)
<i>qnrB</i>	R 5- TTTGCYGYTCGCCAGTCGAA-3		
	F 5- CGAGATCAATTTACGGGGAAT A-3	582	(36)
<i>qnrD</i>	R 5- AACAAGATGAAGCGCCTG -3		
	F 5- GCAAGTTCATTGAACAGGGT-3	428	(35)
<i>qnrS</i>	R 5- TCTAAACCGTCGAGTTCGGCG- 3		
	F 5- CCCTCGAGCATGGATAAAACA GACCAGTTATA-3	657	(37)
<i>qnrVC</i>	R 5- CGGGATCCTTAGTCAGGAACT ACTATTAAACCT-3		

c. Aspectos éticos

Se solicitará el permiso respectivo a Dirección, al comité de ética hospitalaria y al jefe del servicio del laboratorio del Hospital Nacional Ramiro Priale Priale para realizar el presente estudio, así mismo se cumplirá con el derecho a la confidencialidad de información de todas las personas involucradas.

Este protocolo se registrará en el Sistema Descentralizado de Información y Seguimiento a la Investigación (SIDISI) - Dirección Universitaria de Investigación,

Ciencia y Tecnología (DUICT), y será evaluado por el Comité de Ética de la UPCH (CIE-UPCH) previamente a su ejecución. Durante la implementación del estudio se respetarán los principios éticos delineados en la Declaración de Helsinki, y se seguirán estrictamente las recomendaciones realizadas por el CIE-UPCH.

d. Plan de análisis

Se realizará la base de datos en el Software de hojas de cálculo Microsoft Excel y el procesamiento de datos en el programa estadístico se utilizará el Software estadístico SPSS, para la presentación de resultados se hará mediante tablas y gráficos. El hallazgo de los genes de resistencia presentes en *E. coli* resistentes a quinolonas transmitidos por plásmidos en pacientes hospitalizados durante el 2024.

IV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sosa F, Marcial D, Castillo S. Agentes Etiológicos Asociados a Infección del Tracto Urinario en Pacientes Adultos con Diabetes Mellitus Tipo 2. *Ciencia Latina*. 2024 Febrero; 8(1).
2. Deldado P, Ortega Y. Infecciones de la Vías Urinarias y de Trasmisión Sexual. *Sociedad Española de nefrologia*. 2022 Junio.
3. Cruzalegui C, Gómez M, Acuña D, Ríos A, Elescano J, Ortega U, et al. GUÍA DE PRÁCTICA CLÍNICA PARA EL MANEJO DE LA INFECCIÓN DE TRACTO URINARIO NO COMPLICADA. 2019. https://www.essalud.gob.pe/ietsi/pdfs/tecnologias_sanitarias/GPC_ITU_Vers_Corta.pdf.
4. Zboromyrska Y, De Cueto M, Alonso C, Sánchez V. Diagnóstico microbiológico de las infecciones del tracto urinario. *SEIMC*. 2019 Diciembre; 14(1).
5. Guzmán N, García H. Novedades en el diagnóstico y tratamiento de la infección de tracto urinario en adultos. *Revista Mexicana de Urología*. 2020 Febrero; 80(1).
6. Zboromyrska Y, De Cueto M, Tarrés C, Sánchez V. Diagnóstico microbiológico de las infecciones del tracto urinario. *SEIMC*. 2019.
7. Álvarez E, Campo A, García M, Cores , Belhassen M, Pardo J. Urinary infection in the elderly. *ELSEVIER*. 2019 Mayo; 219(4).

8. Wagenlehner F, Bjerklund T, Cai T, Koves B, Kranz J, Pilatz A, et al. Epidemiology, definition and treatment of complicated urinary tract infections. *Nature Reviews Urology*. 2020 Agosto; 17(10).
9. Yábar M, Curi B, Torres C, Calderón R, Riveros M, Ochoa T. Multirresistencia y factores asociados a la presencia de betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* provenientes de urocultivos. *Scielo*. 2017 Diciembre; 34(4).
- 10 León D, Fajardo A, Yareta J, Burgos A, Peralta C, Galarza M, et al. Caracterización molecular de enterobacterias multirresistentes en dos departamentos de la selva peruana. *Scielo*. 2021 Octubre; 41(2).
- 11 Echániz G. Resistencia Antimicrobiana. *COFEPRIS*. 2021 Diciembre; 3(1).
- 12 Scapellato P, Cornistein W. La pandemia oculta: resistencia a antimicrobianos. Ley y desafíos. *Sociedad Argentina de Infectología*. 2023 Marzo; 110.
- 13 Rodríguez J, Rodríguez M. Antibióticos innovadores contra la farmacorresistencia bacteriana obtenido por tecnología de edición genética CRISPR/Cas9. *Revista Cubana de Medicina*. 2022 Septiembre; 61(3).
- 14 Correa A, De La Cadena E. Capítulo 1 - Resistencia bacteriana a los antibióticos betalactámicos. 1st ed. Cali EUSd, editor. Colombia: University of Southern California; 2021.
- 15 Digestivo FEdA. Sanidad recomienda no prescribir las quinolonas y fluoroquinolonas en infecciones leves por sus reacciones adversas. *FEAD*. 2022 Octubre.

- 16 Espinosa I, Báez M, Hernández R, López Y, Lobo E, Corona B. Resistencia antimicrobiana en bacterias de origen animal: desafíos para su contención desde el laboratorio. *Scielo*. 2019 Diciembre; 41(3).
- 17 Hillman T. Plasmid carriage and the natural complexity of bacterial populations contributes to plasmid persistence. *Journal*. 2023 Diciembre; 4(3).
- 18 Azargún R, Gholizadeh P, Sadeghi V, Hosainzadegan H, Tarhriz V, Yousef M, et al. Molecular mechanisms associated with quinolone resistance in Enterobacteriaceae: review and update. *JOURNAL*. 2020 Octubre; 114(10).
- 19 Millanao A, Mora A, Villagra N, Bucarey S, Hidalgo A. Biological Effects of Quinolones: A Family of Broad-Spectrum Antimicrobial Agents. *Journals*. 2021 Noviembre; 26(23).
- 20 Gao F, Wang P, Yang H, Miao Q, Ma L, Lu G. *European Journal of Medicinal Chemistry*. Recent developments of quinolone-based derivatives and their activities against *Escherichia coli*. 2018 Septiembre; 157(5).
- 21 Dong-Mei Z, Qiu-Hong L, Yan S, Qin Z. Risk factors for quinolone-resistant *Escherichia coli* infection: a systematic review and meta-analysis. *Journal*. 2020 Enero; 9(1).
- 22 Herrera M. Estudio de la resistencia a quinolonas en cepas de *Escherichia coli* productoras de BLEE, aisladas de infecciones urinarias. *Repositorio Latinoamericano*. 2020 Febrero.
- 23 Panamá T, Gallegos J. Resistencia antimicrobiana en *Escherichia coli* aislada de urocultivos. *Scielo*. 2021 Diciembre; 4(12).

- 24 Medina D, García F. Patterns of bacterial resistance in urine cultures of a hospital of Chihuahua, Mexico. *Medicina Interna de Mexico*. 2021 Abril; 37(4).
- 25 Marcos P, Salvatierra G, Yareta J, Pino J, Vásquez N, Diaz P, et al. Microbiological and molecular characterization of antimicrobial resistance in uropathogenic *Escherichia coli* from peruvian public hospitals. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2021 Marzo; 38(1).
- 26 RODRIGUEZ J. Diversidad plasmídica en sepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*: comparación entre aislados y clínicos. 2020. Tesis Doctoral.
- 27 Gonzales E, Patiño L, Ore E, Martínez V, Moreno S, Cruzado N, et al. β -lactamasas de espectro extendido tipo CTX-M en aislamientos clínicos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* en el Instituto Nacional de Salud del Niño-Breña, Lima, Perú. *Revista Medica Herediana*. Diciembre 2019; 30(4).
- 28 García J, Martínez D, Caña L, González D, Rodríguez L, Rodolfo H, et al. Genes *qnr* en *Enterobacteriaceae* aisladas en un hospital de Venezuela. *Scielo*. 2018 Abril; 35(2).
- 29 IZQUIERDO J. Factores que influyen en la estancia prolongada de pacientes del servicio de emergencia en el Hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé – Essalud – Huancayo 2019. 2020. Repositorio del la UPLA.
- 30 Navarroa F, Calvo J, Cantón R, Fernández F, Mirelis B. Detection of resistance phenotypes in gram-negative bacteria. *ELSEVIER*. Septiembre 2011; 29(7).

- 31 Escobar F, Ferro F, Rocha N, Leon A. Seminario Internacional “resistencia a antibióticos”: Amenaza global a la salud pública - Universidad Nacional del Altiplano, Puno Perú. Revista de Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research de la Universidad Nacional del Altiplano - Puno Perú. 2020 Marzo; 22(1).
- 32 Ortiz F, Weiler N, Álvarez M, Orrego V, Martínez J, Melgarejo N, et al. Mecanismos plasmídicos de resistencia a quinolonas, betalactámicos y colistina en Salmonella enterica. Paraguay 2020-2021. Scielo. 2023 Octubre; 21(1).
- 33 Gonzales E, Soto J. Urocultivo con removedor de antibióticos: mitos y verdades. Scielo. 2020 Marzo; 31(1).
- 34 Talavera J, Acosta J, Reyes N, Salgado C, Talavera M. Prevalencia de genes qnrB, qnrA y blaTEM en bacteriófagos atemperados de Escherichia coli aislados en agua residual y alcantarillas de rastros del Estado de México. Rev Mex Cienc Pecu. 2021 Marzo; 12(1).
- 35 FarajzadehSheikh A, Veisi H, Shahin M, Getso M, Farahani A. Frequency of quinolone resistance genes among extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing Escherichia coli strains isolated from urinary tract infections. Tropical Medicine and Health. 2019 Marzo; 47.
- 36 Peñaloza L, Aspiazu K. Mecanismos de resistência de Escherichia Coli na América Latina. Revista de investigacion de Salud. 2021 Agosto; 4(11).
- 37 Xia R, Guo X, Zhang Y, Xu H. qnrVC-Like Gene Located in a Novel Complex Class 1 Integron Harboring the ISCR1 Element in an Aeromonas punctata

Strain from an Aquatic Environment in Shandong Province, China. American Society for Microbiology. 2010 Agosto; 54(8).

V. ANEXOS

Cuadro de operacionalización de variable

VARIABLE	DEFINICIÓN	DEFINICIÓN OPERACIONAL E INDICADOR	ESCALA	CATEGORÍAS Y VALORES
Resistencia antibiótica	Es la capacidad de un microorganismo para resistir a los efectos de un antibiótico aplicado a un mal. La resistencia se produce naturalmente por selección natural a través de mutaciones producidas por azar. (31)	Estudio que determina la efectividad de los antibióticos contra la bacteria de <i>Escherichia coli</i> que han sido aislados en los urocultivos.	Nominal	<ul style="list-style-type: none"> • Si resistente a: <ul style="list-style-type: none"> A penicilinas y cefalosporinas, incluyendo las de tercera y cuarta generación. • No resistente
Genes de resistencia a quinolonas transmitidas por plásmidos	La resistencia genética a diversos antimicrobianos se asocia con elementos genéticos móviles, tales como plásmidos, transposones e integrones. (32)	Estudios a través de reacción de la cadena de polimerasa (PCR) se determina los tipos de genes.	Nominal	<ul style="list-style-type: none"> • Si hay presencia de genes: <ul style="list-style-type: none"> qnr (A,B,C,D, S y VC) • No hay presencia de genes.
Urocultivos	El urocultivo es el cultivo de orina para diagnosticar infección sintomática del tracto urinario o infección asintomática, es uno de los exámenes microbiológicos	Es aislamiento de bacterias para su identificación.	Nominal	<ul style="list-style-type: none"> • Positivo • Negativo

	de mayor importancia para el diagnostico. (33)			
--	--	--	--	--