



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA

Caracterización genómica de *Escherichia coli* uropatógena proveniente de aislados clínicos de Latinoamérica

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Biología

Autor

Francesca Nicole Caballero Salazar

Asesor

Dr. Pablo Tsukayama Cisneros

Co-Asesor

Lic. Diego Bernhard Cuicapuza Arteaga

Lima, Perú

2025

Jurado calificador

Presidente: Dra. Monica Jehnny Pajuelo Travezaño


Vocal: Dra. Fiorella del Carmen Krapp Lopez

Secretario: Dr. Jesus Humberto Tamariz Ortiz

Feedback Studio - Google Chrome
ev.turnitin.com/app/carta/es/?ro=1038co=2620332471&lang=es&ts=1&u=1165482885

1 de 1: Uigict FACI FAVEZ
Caracterización genómica de Escherichia coli uropatogena pr...

Similitud 13% Marcas de alerta



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA

Caracterización genómica de Escherichia coli uropatogena proveniente de aislados clínicos de Latinoamérica

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Biología

Autor
Francisca Nicole Cebalero Salazar

Asesor
Dr. Pablo Tsukayama Cisneros

Co-Asesor
Lic. Diego Bernhard Cisques Arcega

Lima, Perú
2023

Página 1 de 37 8535 palabras 86%

Informe estándar
Informe en inglés no disponible Más información

13% Similitud estándar Filtros

2 Exclusiones →

Fuentes
Mostrar las fuentes solapadas

- 1 Internet hdl.handle.net 1%
11 bloques de texto 92 palabra que coinciden
- 2 Internet repositorio.upch.edu.pe <1%
5 bloques de texto 72 palabra que coinciden
- 3 Trabajos del estudiante upeu <1%
3 bloques de texto 55 palabra que coinciden
- 4 Internet repositorioinstitucional.buap.mx <1%
4 bloques de texto 36 palabra que coinciden

DEN - LAL Puntuación del p... 03:02 p.m. 20/03/2025

Tabla de contenidos

Resumen.....	1
Abstract	2
I. Introducción.....	3
II. Pregunta de investigación.....	7
III. Objetivos	7
3.1 Objetivo general.....	7
3.2 Objetivos específicos	7
IV. Materiales y métodos	8
4.1 Diseño del estudio	8
4.2 Genomas públicos de UPEC en Latinoamérica	8
4.3 Archivos sin procesar (SRA) provenientes de artículos científicos	8
4.3.1 Criterios de inclusión.....	9
4.3.2 Criterios de exclusión.....	9
4.4 Refinamiento de selección de los genomas de UPEC	9
4.5 Análisis bioinformático de genomas ensamblados.....	10
4.6 Análisis filogenético.....	10
4.7 Análisis estadístico	11
4.8 UPECfinder para la identificación de cepas UPEC.....	11
4.8.1 Conceptualización.....	11
4.8.2 Desarrollo.....	11
4.8.3 Implementación	12
4.8.4 Validación.....	12
V. Resultados.....	13
VI. Discusión	21
VII. Conclusión.....	25
VIII. Referencias bibliográficas.....	26
Anexos.....	33

Resumen

Introducción: *Escherichia coli* uropatógena (UPEC) es la principal causante de infecciones del tracto urinario (ITU) a nivel mundial, con clones de alto riesgo como ST131 y ST1193 que presentan resistencia a múltiples drogas (MDR). Estas infecciones son un problema de salud pública por su alta prevalencia y la habilidad de UPEC para evadir la respuesta inmune, adherirse a células urinarias y secretar toxinas. Sin embargo, en Latinoamérica se conoce poco sobre su diversidad genética, lo que dificulta la identificación de clones clínicamente relevantes. La secuenciación del genoma completo de aislados de UPEC en la región es clave para mejorar el manejo de estas infecciones.

Objetivo: Caracterizar genéticamente aislados clínicos de UPEC en Latinoamérica a partir de genomas publicados entre el 2016 y 2024. **Metodología:** Se recolectaron 127 genomas de UPEC disponibles en la base de datos del NCBI, definidos por la presencia de tres a más de los genes de virulencia *chuA*, *vat*, *fyuA*, *yfcV*. Estos genomas fueron analizados mediante herramientas bioinformáticas para identificar serotipos, secuenciotipos, genes de resistencia antimicrobiana y mutaciones asociadas a la resistencia. Se llevó a cabo un análisis filogenético para determinar las relaciones entre los aislados y su agrupación en distintos grupos filogenéticos. En el proceso se desarrolló UPECfinder, una herramienta bioinformática que permite la identificación rápida y precisa de UPEC a partir de secuencias genómicas. **Resultados:** El clon ST131 fue el más frecuente (42.5%), seguido por ST1193 (9.9%). El filogrupo B2 fue predominante (82.7%), con una alta prevalencia del serotipo O25:H4. Se detectaron frecuentemente genes de resistencia *blaTEM-1*, *blaCTX-M-15* y *blaCTX-M-27*, y mutaciones en *gyrA* y *parC* asociadas a resistencia a fluoroquinolonas, especialmente en el clon ST131. Además, todos los aislados pertenecientes al ST1193 presentaron doble mutación en el gen *gyrA*. **Conclusión:** Se resalta la alta frecuencia de clones de UPEC de alto riesgo, como ST131 y ST1193, en Latinoamérica, junto con una elevada prevalencia de genes y mutaciones asociados con MDR.

Palabras clave: *Escherichia coli*, uropatógeno, infección del tracto urinario, genoma, epidemiología, filogenética, genes de resistencia.

Abstract

Introduction: Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) is the leading cause of urinary tract infections (UTIs) worldwide, with high-risk clones such as ST131 and ST1193 exhibiting multidrug resistance (MDR). These infections are a public health concern due to their high prevalence and UPEC's ability to evade the immune response, adhere to urinary cells, and secrete toxins. However, little is known about the genetic diversity of UPEC in Latin America, limiting the identification of clinically relevant clones. Whole-genome sequencing of UPEC isolates in the region is crucial for improving the management of these infections. **Objective:** To genetically characterize clinical isolates of uropathogenic *Escherichia coli* in Latin America based on genomes published between 2016 and 2024. **Methodology:** A total of 127 UPEC genomes available in the NCBI database were collected. UPEC was defined by the presence of three or more of the virulence genes *chuA*, *vat*, *fyuA*, and *yfcV*. These genomes were analyzed using bioinformatics tools to identify serotypes, sequence types (STs), antimicrobial resistance (AMR) genes, and resistance-associated mutations. Additionally, a phylogenetic analysis was performed to determine the relationships among the isolates and their grouping into different phylogenetic groups. UPECfinder was developed as a reproducible bioinformatics tool that enables the rapid and accurate identification of UPEC from genomic sequences. **Results:** The ST131 clone was the most frequent (42.5%), followed by ST1193 (9.9%). Phylogenetic group B2 was predominant (82.7%), with a high prevalence of serotype O25:H4. Resistance genes such as *blaTEM-1*, *blaCTX-M-15*, and *blaCTX-M-27*, as well as mutations in *gyrA* and *parC* associated with fluoroquinolone resistance, were frequently detected, particularly in the ST131 clone. Moreover, all isolates belonging to ST1193 exhibited double mutations in the *gyrA* gene. **Conclusion:** This study highlights the high frequency of high-risk UPEC clones, such as ST131 and ST1193, in Latin America, along with a high prevalence of genes and mutations associated with multidrug resistance.

Keywords: *Escherichia coli*, uropathogen, urinary tract infection, genome, epidemiology, phylogenetics, resistance genes.

I. Introducción

Escherichia coli es un bacilo gramnegativo que pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Es una bacteria anaeróbica facultativa y forma parte de la microbiota intestinal normal como organismo comensal en la mayoría de humanos. Sin embargo, algunas variantes genéticas son patógenas y pueden causar enfermedad en humanos (1). Las cepas patógenas se clasifican según el sitio de colonización en intestinales (InPEC) y extraintestinales (ExPEC). Dentro de esta última, se encuentra el tipo *E. coli* uropatógeno (UPEC, por sus siglas en inglés), una variante oportunista capaz de colonizar el tracto urinario y causar infecciones (2). Estas cepas UPEC son la principal causa de las infecciones de tracto urinario (ITU) a nivel mundial, afectando aproximadamente a 400 millones de personas al año y causando cerca de 230,000 muertes anuales, según el estudio Global Burden of Disease del 2019 (3). Estas infecciones constituyen el segundo tipo más común en adultos y genera gastos económicos superiores al billón de dólares anuales (4,5).

Las ITU se clasifican en complicadas (cITU), cuando están asociadas a condiciones como comorbilidades, embarazo y estado inmunocomprometido o anormalidades del tracto urinario como obstrucción, hidronefrosis y cálculos del tracto renal. Se consideran no complicadas (uITU) en ausencia de estas condiciones (6). UPEC representa el 75% de las uITU y está asociada a factores de riesgo como la diabetes, la obesidad, la edad y el sexo, con un 12% de mujeres afectadas por año (5,7,8). Por otro lado, UPEC representa el 65% de las cITU y los principales factores de riesgo incluyen obstrucción o retención urinaria, inmunosupresión, trasplante o fallo renal, embarazo y presencia de cuerpos extraños como catéteres (7). Las uITU se dividen en 2 categorías: superior o pielonefritis, cuando involucra la infección del riñón, e inferior o cistitis, cuando se infecta la vejiga (7). La pielonefritis puede conllevar a una bacteriemia, con una tasa de mortalidad global que oscila entre el 10 y el 20% (9).

La Asociación Europea de Urología en el 2024 recomienda el uso de fosfomicina y nitrofurantoína como antibióticos de primera línea en el tratamiento de cistitis no complicadas y cefalosporinas como una alternativa. Se recomienda emplear trimetoprim-

sulfametoxazol en caso que el patrón de resistencia local para *E. coli* sea inferior al 20%. Para el tratamiento de pielonefritis no complicadas, recomiendan fluoroquinolonas y cefalosporinas de tercera generación como primera línea y carbapenémicos como última línea (10). En cambio, en el 2023 recomendaron para ITU complicadas aminoglucósidos en combinación con amoxicilina y cefalosporinas de segunda generación (5). Sin embargo, el uso inadecuado y la escasa regulación en la venta de antibióticos de amplio espectro como fluoroquinolonas, aminoglucósidos y cefalosporinas; han contribuido significativamente al aumento de la resistencia antimicrobiana (RAM). Esta problemática afecta especialmente a países de bajos y medianos ingresos (11). Por ejemplo, la ciprofloxacina presenta 79.6% de resistencia en México (2019), 42.8% en Argentina (2018) y 18.8% en Brasil (2014). En cuanto a la amoxicilina-ácido clavulánico, Argentina (2018) presenta una resistencia del 28.6% y México (2018) del 23.6%. En relación con el trimetoprim-sulfametoxazol, México (2019) muestra una resistencia del 66.0% y Brasil (2016) del 50.6% (11,12).

Respecto a los mecanismos de RAM, los genes *bla* codifican enzimas betalactamasas (BL) que tienen la capacidad de hidrolizar a penicilinas, monobactámicos, cefalosporinas y carbapenémicos. En el caso de UPEC, se ha identificado BL de clase A según la clasificación de Ambler, que incluye CTX-M y SHV-2 de tipo espectro extendido (BLEE) y TEM-1, TEM-2 y SHV-1 de espectro reducido (BLEA) (13,14). De estos, en UPEC la CTX-M es la más prevalente (68.2%) (15–17). En estas destaca *blaCTX-M-1*, la betalactamasa más frecuente en *E. coli* productora de BLEE en Chile en el 2019 con un 84.7%, capaz de hidrolizar cefalosporinas de tercera generación (18). Asimismo, se destaca *blaCTX-M-15*, que, además de su elevada prevalencia en Enterobacterias uropatógenas, presenta una capacidad hidrolítica superior frente a cefalosporinas como cefotaxima, ceftazidima y ceftriaxona (19).

Además, existen mecanismos de resistencia no enzimáticos, como las mutaciones puntuales en el sitio diana de genes específicos. Las mutaciones en los genes *parC/E* y *gyrA/B* están relacionados con la resistencia a fluoroquinolonas, estos genes codifican para la topoisomerasa IV y ADN girasa respectivamente (20). Asimismo, mutaciones en *glpT* y *uhpT* se relacionan con resistencia a fosfomicina (21) y *pmrA/B/D* a colistina (22). Otros mecanismos no enzimáticos incluyen a las bombas de eflujo, en *E. coli* las

principales están codificadas por los genes *emrD*, *acrF*, *mdtM*, que están relacionadas con la multidrogoresistencia (MDR) (23). UPEC representa un importante problema de salud pública, en parte debido a la plasticidad de su genoma que le permite adaptarse rápidamente a diferentes antibióticos (6). Según la clasificación de Clermont, el filogrupa B2 está principalmente asociado a cepas provenientes de humanos y reportó una asociación del 39.02% con cepas MDR. La asociación con el filogrupa D fue de 54.9% (24).

Los factores de virulencia se encuentran presentes principalmente en plásmidos, transposones, islas de patogenicidad (PAIs) y son esenciales para que la enfermedad se desarrolle (2,4). Un requisito para una infección exitosa es la capacidad de adherencia, que implica la unión estrecha a las células uroteliales mediada por fimbrias que poseen adhesinas en sus extremos (25). El gen *fim* codifica para fimbrias tipo 1, *pap* para tipo P, *crl* para tipo curli y *yfcV* para adhesinas (2). Seguido de la adhesión, la secreción de toxinas permite difundir a tejidos más profundos y ganar acceso a nutrientes o destruir células que correspondan a la respuesta inmune (25). El gen *cnf* codifica al factor necrosante citotóxico, *hly* a la alfa-hemolisina y *vat* a la toxina autotransportadora inductora de vacuolización (2).

Otro grupo de factores de virulencia está relacionado con la adquisición del hierro, ya que este elemento es extremadamente limitado en el tracto urinario y, a pesar de su toxicidad, es necesario para el crecimiento y metabolismo bacterianos (25). Los genes implicados en este proceso incluyen a *sit* para su transporte, *chuA* para su utilización a partir de hemoglobina y sideróforos como *iro*, *fyuA*, *aer*, *ybt* (26). Por último, activan mecanismos para suprimir la respuesta inmune y escapar del reconocimiento del hospedero (25). Los genes más representativos son *kps* para la formación de la cápsula, *tra* para resistencia sérica y una serie de factores para proteínas de la membrana externa como *omp*, *iut* y *fli* (2). En los filogrupos B2 y D, predominan los genes asociados a adhesión y captación del hierro, mientras que los relacionados con toxinas están menos presentes (24). Las cepas UPEC se distinguen por la presencia de al menos tres de estos cuatro factores de virulencia específicos: *chuA*, *fyuA*, *vat* y *yfcV* (27).

La falta de un conjunto de genes definitorios de UPEC llevó a Spurbeck *et al.* (2011) a estudiar la prevalencia de genes de adherencia en *E. coli* de pacientes con ITU. Identificaron 9 genes asociados ($p < 0.001$) en comparación con cepas comensales. El número de tipos de fimbrias mostró una distribución bimodal, con la población mayoritaria presentando 8.3 ± 1.3 fimbrias, más factores de virulencia (7.0 ± 2.7) y asociación a UPEC (28). Estos hallazgos llevaron a Spurbeck *et al.* (2012) a proponer que un gen predictor (GP) ideal se asocia con más genes de virulencia y su ausencia con menos (Anexo 1). De los 23 genes analizados, *yfcV*, *vat*, *chuA* y *fyuA* fueron seleccionados. La presencia de estos GP se correlacionó con un mayor número de genes de virulencia ($r^2 = 0.975$, $p = 0.0017$), permitiendo diferenciar UPEC de cepas comensales y subgrupos de ExPEC. La sensibilidad del ensayo PCR multiplex fue del 62.4% para cepas con 3 o 4 GP, la especificidad fue de 69.6% y el valor predictivo positivo fue del 82.5% (27). A partir de esta definición de UPEC se realizaron estudios posteriores, en 2017 se encontró que *E. coli* de ITU que no clasificaban como UPEC, podían corresponder a cepas comensales en infecciones relacionadas a catéteres (29). En 2022, se halló que los GP asociados con una mayor eficiencia de colonización del tracto urinario (UPEC positivos) se encontraban en los filogrupos B2, F y G (30).

Los avances en genómica de las últimas décadas permiten hoy la identificación precisa de secuenciotipos (STs) y clones de alto riesgo. Un estudio realizado en Irak identificó al filogrupo B2 como el más frecuente (33.9%) y encontró una relación restringida entre este y el ST131, el clon de riesgo predominante en el mundo que es altamente virulento y con perfiles MDR (31). B2 se ha registrado como el más prevalente en cepas de UPEC en países como Irán, China, Dinamarca, Francia, Corea del Sur, Pakistán y tras una recopilación de estudios se concluyó que ST131 no es exclusivo a este filogrupo, aunque le corresponden la gran mayoría de aislados (32). Otros clones de importancia internacional incluyen a los productores de carbapenemasas ST60 y ST10, los siguientes más frecuentes respectivamente, y ST1193 como un clon pandémico que ha emergido recientemente caracterizado por su resistencia a fluoroquinolonas (33).

La falta de información sobre la diversidad genómica y los patrones de resistencia de UPEC en Latinoamérica dificulta su monitoreo y tratamiento. La mayoría de los estudios se limitan a identificar marcadores de linajes y genes de resistencia utilizando PCR

convencional. Aunque la secuenciación del genoma completo (“whole-genome sequencing”, WGS) es una herramienta clave para la caracterización de aislados con alta resolución y a gran escala, hasta la fecha se han reportado pocos estudios en la región que emplean esta técnica para UPEC. Esta técnica permite comprender la variabilidad genética, identificar genes de virulencia y determinar patrones de resistencia; elementos cruciales para el desarrollo de estrategias de prevención, diagnóstico y tratamiento más efectivas (34,35). Por lo tanto, con el fin de entender mejor la diversidad genómica de este patógeno en Latinoamérica, la presente investigación realiza un análisis bioinformático y filogenético.

II. Pregunta de investigación

¿Cuáles son las características genéticas de aislados clínicos de *Escherichia coli* uropatógena en Latinoamérica entre el 2016 y 2024?

III. Objetivos

3.1 Objetivo general

Caracterizar genéticamente aislados clínicos de *Escherichia coli* uropatógena en Latinoamérica a partir de genomas publicados entre el 2016 y 2024.

3.2 Objetivos específicos

- Establecer un set de datos con genomas publicados de UPEC en Latinoamérica.
- Identificar los secuenciotipos y serotipos presentes en este set de datos.
- Identificar sus genes y mutaciones asociadas a resistencia antimicrobiana y virulencia.
- Determinar las relaciones filogenéticas entre los genomas de UPEC.

IV. Materiales y métodos

4.1 Diseño del estudio

Se realizó un estudio descriptivo y observacional.

4.2 Genomas públicos de UPEC en Latinoamérica

Se descargaron genomas ensamblados en formato FASTA (secuencias consenso) desde el National Center for Biotechnology Information (NCBI) Isolates Browser (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pathogens/isolates/>). Los criterios de búsqueda incluyeron el grupo taxonómico (taxgroup_name) “*E. coli* and *Shigella*”; el tipo de aislado (epi_type) “clinical”; la fuente del aislado (isolation_source) “urine”; el hospedero (host) “*Homo sapiens*” y la ubicación geográfica (geo_loc_name) limitada a “Paraguay” “Argentina” “Colombia” “Brazil” “Chile” “Peru” “Mexico”. Cabe resaltar que la búsqueda incluyó a todos los países de Latinoamérica pero solo los mencionados presentaron resultados bajo los previos filtros. El nombre científico (scientific_name) se restringió a “*Escherichia coli*”. Se descargó la metadata de todos los aislados en un archivo con extensión .csv que incluye datos relevantes como el código que identifica al aislado, el código de ensamblaje, el año, el país y BioSample. Desde el 2016 hasta el 2024, se disponía de un total de 325 genomas que cumplían con estos criterios (Figura 1).

4.3 Archivos sin procesar (SRA) provenientes de artículos científicos

Se llevó a cabo una búsqueda sistematizada de artículos científicos que han publicado información genómica sobre UPEC, siguiendo la metodología propuesta por Arskey y O’Malley. (36) Las bases de datos públicas seleccionadas fueron Pubmed, SciELO y LILACS, y las búsquedas se realizaron bajo criterios específicos de inclusión y exclusión.

En Pubmed, se realizó una búsqueda avanzada utilizando los términos MeSH: (((*Escherichia coli*) AND ((urinary tract infection) OR (uropathogenic) OR (urinary

bactericidal)) AND ((genome) OR (sequencing) OR (WGS))). En Scielo y LILACS, las búsquedas se realizaron con los términos: “*E. coli* uropatógena”, “UPEC”, “*E. coli* de orina”, “*E. coli* from urine”. La tercera fase implicó revisión detallada de los artículos para seleccionar aquellos que cumplan con los criterios establecidos (36).

4.3.1 Criterios de inclusión

- Los artículos anuncian en su metodología el secuenciamiento completo de las muestras estudiadas.
- Los aislados provienen de países de Latinoamérica (Paraguay, Argentina, Colombia, Brasil, Chile, Perú, México, Bolivia, Costa Rica, Cuba, Ecuador, El Salvador, Guatemala, Haití, Honduras, Nicaragua, Panamá, República Dominicana, Uruguay y Venezuela).
- Los aislados son muestras provenientes de humanos.

4.3.2 Criterios de exclusión

- Se excluyeron artículos de tipo revisión y reportes de casos clínicos.

La siguiente fase consistió en extraer las secuencias mediante la búsqueda de los códigos de acceso SRA, los cuales permiten acceder a estas secuencias en bases de datos públicas (36). Sin embargo, no se encontraron SRA provenientes de artículos científicos que cumplieran con los criterios establecidos.

4.4 Refinamiento de selección de los genomas de UPEC

Para confirmar que los aislados de *E. coli* correspondían al tipo UPEC, se incluyeron aquellos genomas que poseían tres o más de los factores de virulencia relacionados con la capacidad de infectar al tracto urinario propuestos por Spurbeck *et al.*: *chuA*, *vat*, *fyuA*, *yfcV*, lo que indica un perfil genético consistente con UPEC (27,37). Además, se utilizó QUAST v5.2.0 (<https://github.com/ablab/quast>) para evaluar la calidad de los genomas. Se estableció un rango de longitud genómica de 4.5 a 5.5 millones de pares de bases (Mb), con un número de contigs menor o igual a 100 y se excluyeron aquellos genomas que

contenían bases ambiguas. Después de aplicar estos filtros, el número final de genomas públicos considerados fue de 127 (Figura 1).

4.5 Análisis bioinformático de genomas ensamblados

Para identificar los serotipos de los aislados, se empleó la herramienta ABRicate v1.0.1 (<https://github.com/tseemann/abricate>) con la base de datos EcOH. Para determinar los secuenciotipos según el esquema *ecoli_achtman_4*, a partir de los siete genes housekeeping, se utilizó el programa MLST v2.23.0 (<https://github.com/tseemann/mlst>). Para identificar los genes de resistencia antimicrobiana y mutaciones cromosómicas, se empleó el programa AMRFinderPlus v3.12.8 (<https://github.com/ncbi/amr>) con la versión de base de datos 2024-05-02.2. Los genes de virulencia fueron determinados por VirulenceFinder v2.0.5 que utilizó la versión de base de datos 2022-12-02 y se ejecutaron en el servidor en línea del Center for Genomic Epidemiology (CGE) (<https://cge.food.dtu.dk/services/VirulenceFinder/>). En todos los programas se aplicó un umbral de corte del 90% para cobertura e identidad. El filogruppo según el esquema de Clermont fue identificado con el programa bioinformático EzClermont v0.7.0 (<https://github.com/nickp60/EzClermont>) (Figura 2).

4.6 Análisis filogenético

Los genomas se anotaron utilizando Bakta v1.6.1 (38) que produce archivos en formato General Feature Format (GFF3) utilizados para la construcción del core-genoma, mediante identificación de genes core y la eliminación de los genes accesorios por el programa Panaroo v1.2.10 (<https://github.com/gtonkinhill/panaroo>). Posteriormente, el archivo en formato fasta que contiene los genomas core alineados, fue utilizado por el programa ModelTest-NG v0.1.7 (39) para estimar el mejor modelo de árbol filogenético basado en máxima verosimilitud. Finalmente, se construyó el árbol filogenético utilizando RAxML-NG v1.2.0, empleando el modelo GTR+I+G4 y realizando 100 réplicas de bootstrap (40). Se seleccionó como raíz del árbol al aislado de *Escherichia fergusonii* ASM2009747v1. La anotación y visualización del árbol se llevó a cabo por la versión en línea de iTOL v6 (<https://itol.embl.de/>) (Figura 2).

4.7 Análisis estadístico

El análisis de las variables categóricas (serotipo, secuenciotipo, grupo filogenético, genes de resistencia, genes de virulencia, mutaciones puntuales) se presentó mediante frecuencias relativas y porcentajes. Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el programa Stata v18 (Stata Corp., College Station, TX).

4.8 UPECfinder para la identificación de cepas UPEC

4.8.1 Conceptualización

La identificación de genes de virulencia en *E. coli* está disponible en el servidor público del CGE; sin embargo, este sistema no está optimizado para el análisis de múltiples genomas en formato FASTA. Este proceso puede resultar lento debido a la disponibilidad del servidor y, en ocasiones, puede fallar debido a su colapso. Si el análisis se lleva a cabo con éxito, el CGE genera una lista tabular (en formato TSV) que incluye todos los genes de virulencia detectados en cada genoma. Para llevar a cabo la tipificación según el esquema propuesto por *Spurbeck et al.*, es necesario filtrar la base de datos para obtener los genes de interés manualmente o utilizando líneas de código en R o Python. A partir de esta información, se puede determinar si la cepa corresponde a una UPEC. Por lo tanto, se presenta la necesidad de desarrollar una herramienta que agilice la identificación de los genes de virulencia y la clasificación de *E. coli* como UPEC, con el fin de reducir el tiempo de análisis y minimizar la intervención manual.

4.8.2 Desarrollo

De acuerdo con los genes propuestos por *Spurbeck et al.* para identificar *E. coli* como UPEC, se descargó la base de datos `virulence_ecoli.fsa` del programa VirulenceFinder v2.0.5 del CGE. Esta base de datos contiene las secuencias en formato FASTA de todos los genes de virulencia de *E. coli* registrados hasta el 6 de abril de 2024. En una primera etapa, se filtró esta base de datos para centrarse únicamente en los cuatro genes objetivo, permitiendo así la identificación de múltiples alelos para cada uno de estos genes. Posteriormente, se utilizó el programa CD-HIT v4.8.1 para agrupar estos alelos en

clústeres con identidad mínima del 95%, generando una secuencia consenso única para cada gen objetivo, lo que facilita una representación precisa de la variabilidad genética.

4.8.3 Implementación

A continuación, se utilizó el programa disponible en Conda `camlhmp` v1.1.0 (<https://github.com/rpetit3/camlhmp>), una herramienta escrita en Python diseñada para crear esquemas de tipificación basados en perfiles genéticos. Este programa clasifica genomas bacterianos en formato FASTA utilizando dos archivos de entrada: un archivo FASTA que contiene las secuencias de referencia de los cuatro genes objetivo obtenidas con CD-HIT, las cuales se emplean en la búsqueda BLAST, y un archivo YAML que documenta la clasificación propuesta por *Spurbeck* et al, según la presencia o ausencia de estos genes.

De esta manera, `camlhmp` facilitó la creación del esquema de tipificación estandarizado y reproducible de UPECfinder para una identificación precisa de variantes bacterianas. Como resultado del análisis, el programa genera tres archivos de salida (tsv, `blastn.tsv` y `details.tsv`) que determinan si el aislado corresponde a una cepa UPEC y en caso afirmativo, detalla los genes presentes, identidades, coberturas y parámetros de la búsqueda.

4.8.4 Validación

Para validar el programa, se analizaron los 325 genomas descargados de NCBI, de los cuales se excluyeron 172 por no corresponder a UPEC, este resultado tiene 100% de concordancia con lo encontrado en la presente investigación (Figura 1). UPECfinder (<https://github.com/francesca-caballero/UPECfinder>) es un programa disponible en Conda y GitHub con el objetivo de desarrollar una herramienta estandarizada y reproducible para la identificación de UPEC. Dada la complejidad y diversidad genética de *E. coli*, resulta esencial disponer de un programa que simplifique el proceso de tipificación, facilitando el trabajo de los bioinformáticos.

V. Resultados

Se analizaron un total de 127 aislados de UPEC que provenían de cinco países de Latinoamérica: Paraguay (44.1%), Brasil (37.0%), Colombia (9.4%), Argentina (7.1%) y México (2.4%) (Figura 3). La distribución temporal de los aislados es la siguiente: 2018 (4.7%), 2019 (0.8%), 2020 (9.4%), 2021 (33.9%), 2022 (49.6%) y 2023 (1.6%).

En total se identificaron 20 secuenciotipos de UPEC según el esquema de Achtman. El más frecuente es el clon ST131 (42.5%), seguido por ST1193 (9.9%), ST648 (9.2%) y ST998 (3.9%). En Brasil los secuenciotipos predominantes fueron ST131 (40.4%), ST648 (14.9%) y ST127 (10.6%); en Paraguay, ST131 (39.2%), ST1193 (12.5%) y ST73 (7.5%); en Argentina, ST131 (33.3%) y ST1193 (33.3%); en Colombia, ST131 (66.7%) y ST648 (16.7%); y en México no se identificaron clones destacados (Figura 3). El serotipo más frecuente es O25:H4 (44.1%), seguido por O75:H5 (7.9%), O1:H6 (7.1%) y O2:H6 (3.9%). El grupo filogenético Clermont B2 destacó en este set de datos (82.7%), seguido por los filogrupos F (15.7%) y G (1.6%).

Entre los genes de resistencia antimicrobiana (RAM), las betalactamasas más frecuentes fueron *blaTEM-1* (40.2%), *blaCTX-M-15* (32.3%), *blaCTX-M-27* (7.1%), *blaKPC-2* (6.3%) y *blaNDM-1* (2.3%). Los genes más frecuentes asociados a resistencia a aminoglucósidos son *aph(6)-Id* (33.1%), *aph(3'')-Ib* (31.5%), *aadA5* (30.7%), *aac(6)-Ib-cr5* (22.0%) y *aac(3)-Ile* (16.5%). Dentro de los genes relacionados con bombas de eflujo, el gen más frecuente *emrD* estuvo presente en todos los aislados (100%), *acrF* en un 93.7% y *mdtM* en el 61.4%. Además, destacaron otros genes como *mphA* (40.9%) asociado con resistencia a macrólidos, *sul1* (44.1%) y *sul2* (34.6%) a sulfonamidas, *tetA* (38.6%) y *tetB* (18.1%) a tetraciclina y *dfrA17* (34.6%) a trimetoprima.

Se observaron mutaciones no sinónimas asociadas a RAM, el 68.5% de los aislados de UPEC presentaron al menos una mutación simple en el gen *gyrA*, relacionado con la resistencia a fluoroquinolonas. El 66.9% de los aislados presentaron mutaciones dobles en los aminoácidos Ser-83 y Asp-87 de *gyrA*. En el gen *parC*, también asociado a la resistencia a fluoroquinolonas, el 66.9% presentó al menos una mutación, mientras que el 48.0% presentó mutaciones dobles en combinaciones entre los aminoácidos Ala-108,

Ala-56, Glu-84, Ser-57 o Ser-80. Respecto al gen *pmrB*, el 78.0% de los aislados tuvo al menos una mutación y el 1.6% presentó mutaciones dobles entre los aminoácidos Glu-123, Pro-94, Val-161 o Tyr-358.

El resto de genes no presentaron mutaciones dobles. Un total de 113 (89.0%) aislados de UPEC tuvieron una única mutación en el gen *glpT* asociada con resistencia a fosfomicina, específicamente en el aminoácido Glu-448. El 70.9% de aislados la tuvieron en el gen *parE*, que otorga resistencia a fluoroquinolonas, en los aminoácidos Ile-529 (46.5%), Leu-416 (10.2%), Ser-458 (7.9%), Ile-355 (5.5%), Asp-475 (0.8%). Mutaciones únicas en los genes de resistencia a fosfomicina se detectaron en el 66.1% de aislados para *uhpT* en Glu-350 y en el 46.5% para *ptsI* en Val-35. La mutación del gen *marR* se asocia con multiresistencia a ampicilina, cloranfenicol, quinolonas, rifampicina, tetraciclina y se identificó en el 22.8% de aislados en Ser-3. Finalmente, la mutación en *cyaA* asociada con resistencia a fosfomicina se encontró en el 17.3% de aislados en Ser-352.

Se identificaron patrones de coincidencia entre secuenciotipo, serotipo y mutaciones puntuales asociadas a RAM en los 127 genomas analizados (Tabla 1). El patrón con mayor frecuencia incluye al clon ST131 y al serotipo O25:H4 (35.4%), seguido por el clon ST1193 con el serotipo O75:H5 (7.9%). En los tres patrones más frecuentes se encuentran las mutaciones puntuales *gyrA*(D87N), *gyrA*(S83L), *parC*(S80I), todas relacionadas con la resistencia a fluoroquinolonas. Sin embargo, en el patrón 1 también se encontraron *glpT* (E448K), *parC* (E84V), *parE* (I529L), *pmrB* (E123D), *ptsI* (V25I), *uhpT* (E350Q); en el patrón 2, *marR* (S3N), *parE* (L416F), *pmrB* (E123D), *uhpT* (E350Q); y en el patrón 3, *cyaA* (S352T), *glpT* (E448K), *parE* (S458A). Asimismo, los patrones 2 y 4 presentaron mutaciones asociadas al mayor número de clases de antibióticos (siete clases) debido a la presencia del gen MDR *marR*. Además, los patrones 1, 2 y 4 tienen mayor frecuencia en los aislados provenientes de Paraguay y el patrón 3 de Brasil.

En relación a los genes de virulencia, los más frecuentes son los asociados a adhesinas, entre ellos destacan los genes *csgA* (100%), *fimH* (97.6%) y *iha* (60.6%). En los sistemas de captación de hierro, los genes más frecuentes son *chuA* (100%), *sitA* (87.4%) y *iucC* (70.1%). En los genes que codifican toxinas destacan *sat* (59.1%), *vat* (36.2%) y *hlyA*

(33.9%). Por último, los genes más frecuentes involucrados en el escape de reconocimiento por el sistema inmune del hospedero son *kpsE* (95.3%), *ompT* (95.3%) y *traT* (59.8%).

En el análisis filogenético se identificaron dos clados principales según la clasificación Clermont: F y G/B2 (Figura 4). El segundo clado es más extenso y está dividido en un subclado para el grupo G y dos grandes subclados para B2. Se observa que los clones ST131, ST1193, ST998 y ST127 se encuentran restringidos al filogrupo B2, mientras que ST648 y ST354 al filogrupo F, y ST117 al filogrupo G. Los serotipos O25:H4, O75:H5 y O2:H6 están restringidos al filogrupo B2, mientras que O1:H6 y O45:H6 al filogrupo F. Cabe destacar que todos los aislados pertenecientes al ST1193 presentan doble mutación en el gen *gyrA* y la mayoría de aislados pertenecientes al ST113 presentan doble mutación en los genes *gyrA* y *parC* simultáneamente.

Figura 1. Diagrama de flujo STROBE sobre búsqueda de secuencias genómicas de UPEC en la base de datos del NCBI *Isolates Browser* en Latinoamérica.

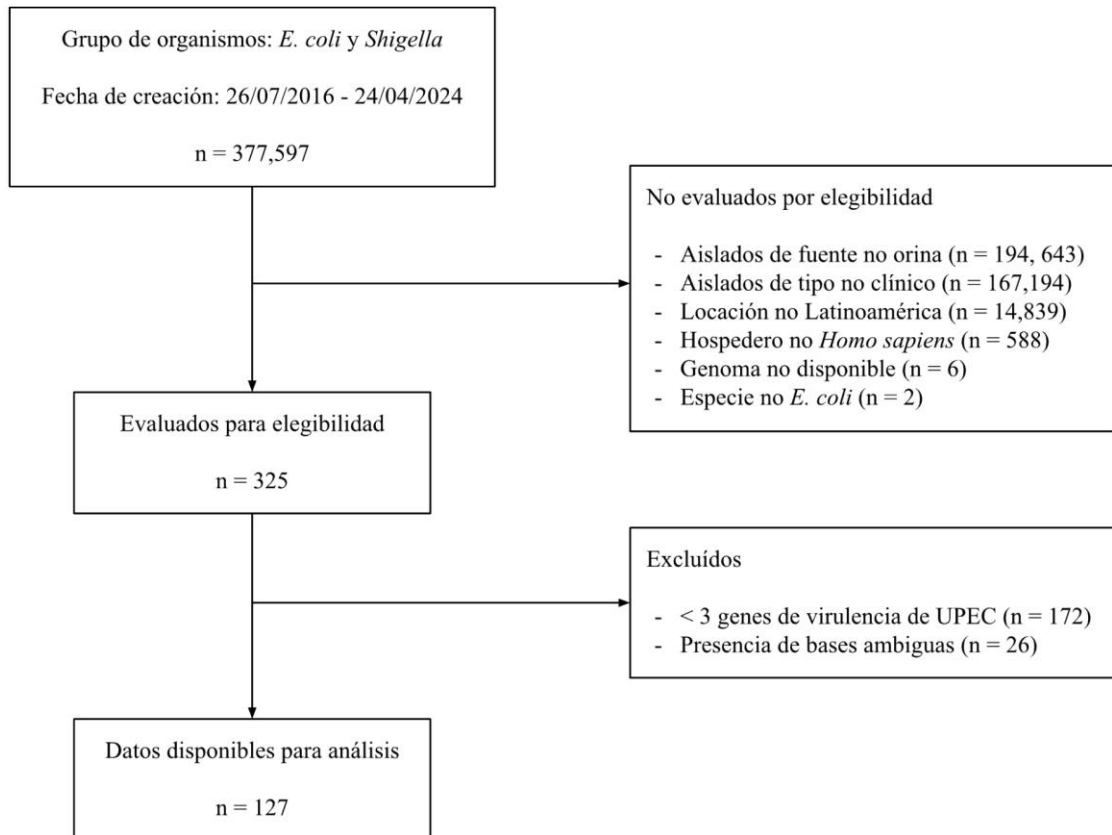


Figura 2. Diagrama de flujo del plan de trabajo.

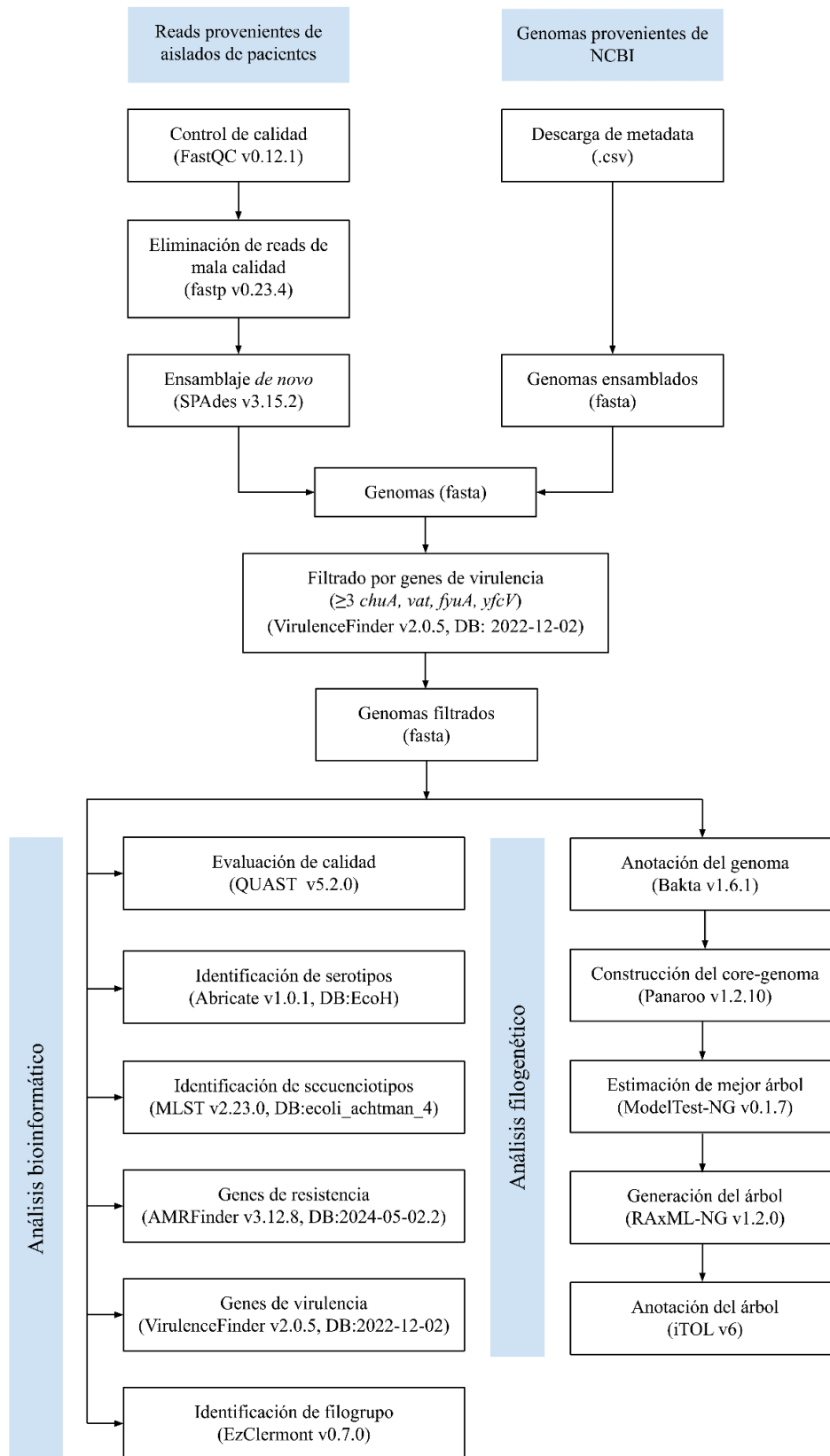


Figura 3. Distribución geográfica de clones de UPEC en Latinoamérica.

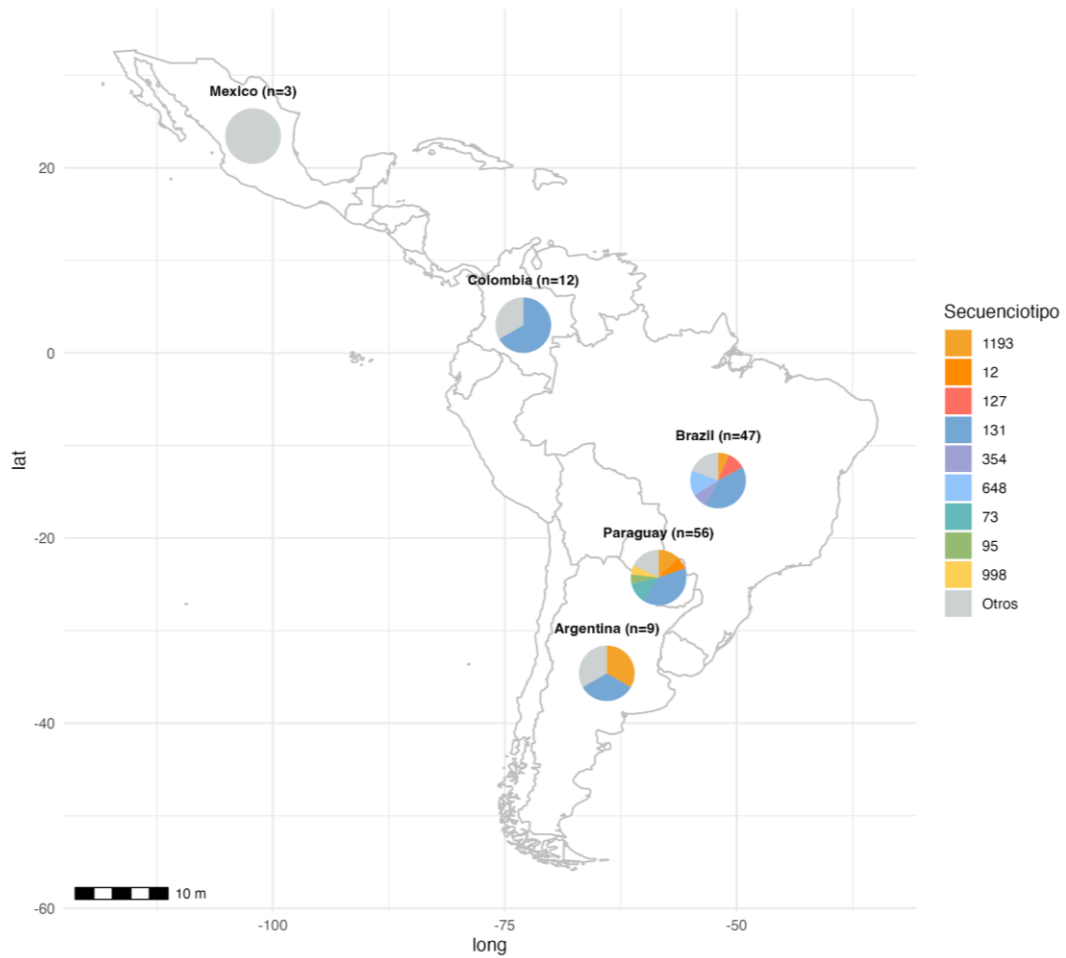
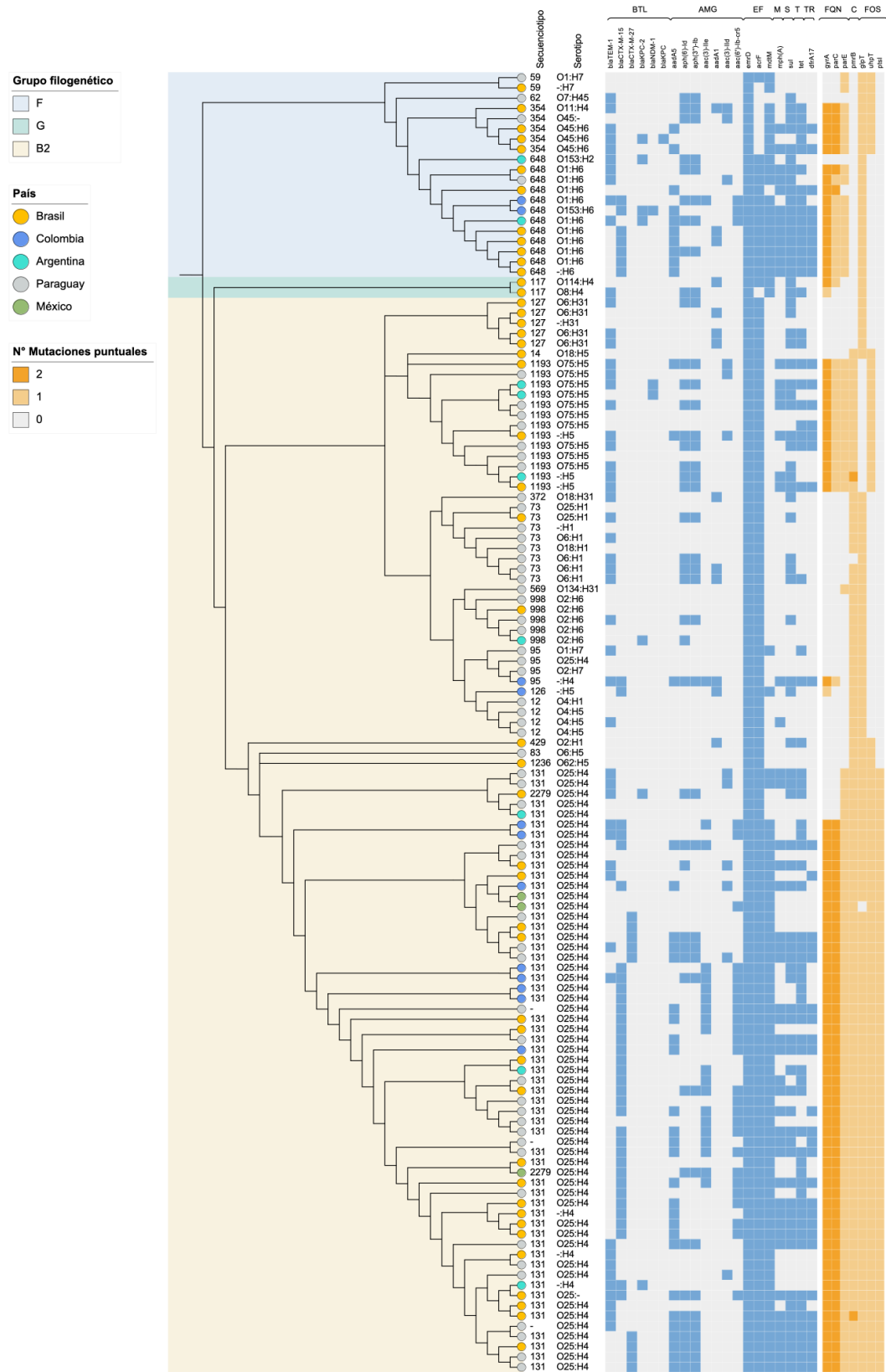


Figura 4. Árbol filogenético de 127 aislados de UPEC de Latinoamérica durante 2018 y 2023.



BTL: betalactamasas, AMG: aminoglucósidos, EF: eflujo, M: macrólidos, S: sulfonamidas, T: tetraciclina, TR: trimetropim, FQN: fluoroquinolonas, C: colistina, FOS: fosfomicina

Tabla 1. Patrones más frecuentes de serotipo, secuenciotipo, mutaciones puntuales asociadas a resistencia de 127 aislados de UPEC de Latinoamérica.

Número de patrón	Secuenciotipo	Serotipo	Mutaciones asociadas a resistencia antimicrobiana	Clases de antibióticos	Número de aislados de UPEC (%)	Países (n)
1	131	O25:H4	<i>glpT</i> (E448K), <i>gyrA</i> (D87N), <i>gyrA</i> (S83L), <i>parC</i> (E84V), <i>parC</i> (S80I), <i>parE</i> (I529L), <i>pmrB</i> (E123D), <i>ptsI</i> (V25I), <i>uhpT</i> (E350Q)	3	45 (35.4)	Paraguay (19) Brasil (16) Colombia (8) Argentina (1) México (1)
2	1193	O75:H5	<i>gyrA</i> (D87N), <i>gyrA</i> (S83L), <i>marR</i> (S3N), <i>parC</i> (S80I), <i>parE</i> (L416F), <i>pmrB</i> (E123D), <i>uhpT</i> (E350Q)	7	10 (7.9)	Paraguay (7) Argentina (2) Brasil (1)
3	648	O1:H6	<i>cyaA</i> (S352T), <i>glpT</i> (E448K), <i>gyrA</i> (D87N), <i>gyrA</i> (S83L), <i>parC</i> (S80I), <i>parE</i> (S458A)	2	7 (5.5)	Brasil (4) Argentina (1) Colombia (1) Paraguay (1)
4	998	O2:H6	<i>glpT</i> (E448K), <i>marR</i> (S3N), <i>pmrB</i> (E123D)	7	5 (3.9)	Paraguay (3) Argentina (1) Brasil (1)

VI. Discusión

Durante el período 2018-2023, el clon ST131 se identificó en un 42.5% de los genomas UPEC analizados. En comparación, un estudio realizado en Arabia Saudita en 2020 reportó una prevalencia del 61.7% (41) y en México del 63.3% (42). ST131 es conocido por ser una cepa pandémica de alto riesgo y multidrogorresistente (MDR), siendo una de las principales causas de ITU y bacteriemias difíciles de tratar. Este clon presenta plásmidos que codifican genes de resistencia y virulencia adicionales, facilitando su diseminación en entornos comunitarios y hospitalarios (43). El clon emergente ST1193, también pandémico y MDR, también ha sido identificado como causa de ITU y bacteriemias (44). En nuestro estudio, el 9.9% de los aislados de la región corresponden a ST1193. Ello es mayor al 6% reportado en España en una recolección de UPEC en mujeres de centros de atención primaria (30).

El grupo filogenético B2, reconocido como el más virulento y con alta prevalencia en mamíferos, está asociado con infecciones extraintestinales persistentes (45). En nuestro estudio, el 82.7% de los aislados pertenecen al grupo B2, destacándose los clones ST131 con serotipo O25. Un estudio en Irak identificó que el 33.9% de UPEC pertenecían al filogrupo B2, de los cuales el 92.1% corresponden al ST131 y el 97.1% eran del serotipo O25 (31). El linaje O25-B2-ST131 es considerado hipervirulento, MDR y productor de BLEE, lo que subraya la necesidad de implementar medidas de control para limitar su propagación (46). De manera similar, un reporte en Arabia Saudita identificó una prevalencia del 61.7% para el filogrupo B2, y que el 100% de los clones ST131 pertenecían a este grupo, resultado consistente con nuestro estudio (41). En contraste, un estudio previo en Perú no identificó los filogrupos F y G entre los aislados de UPEC (47).

En cuanto a las betalactamasas, nuestro estudio destaca la presencia de los genes *blaCTX-M-15* (32.3%) y *blaCTX-M-27* (7.1%). Estos resultados difieren de un estudio previo realizado en Perú en 2021, que utilizó PCR convencional y reportó una frecuencia del 18% para el gen *blaCTX*, con una distribución diferente donde predominaron *blaCTX-M-1* (72.4%) y *blaCTX-M-9* (25.9%) (48). Estos hallazgos subrayan la importancia de

reportar alelos específicos de betalactamasas para comprender mejor su distribución e impacto en la resistencia antimicrobiana.

En relación a los genes asociados con bombas de eflujo, observamos que el 100% de los genomas analizados contenían el gen *emrD* y el 93.7% el gen *acrF*, los cuales desempeñan un rol fundamental en la resistencia a múltiples familias de antibióticos mediante la regulación transcripcional (49). Estos hallazgos son similares a los reportados en un estudio de UPEC en Irak, donde se encontró una prevalencia del 100% para *emrD* y del 66% para *acrF* (50). Además, el gen *tetA* (38.6%) destacó en la resistencia a tetraciclinas, mientras que *sulI* mostró una prevalencia del 44.1% en la resistencia a sulfonamidas. En contraste, un estudio en Irán reportó que los genes *tetB* (66.7%) y *sulI* (45.5%) fueron los más prevalentes (51), lo que podría atribuirse a diferencias geográficas y al uso de técnicas moleculares para la identificación de los genes.

Las mutaciones puntuales (SNPs) también desempeñan un papel crucial en la RAM. En Irán, se encontró que el 91.2% de cepas con dobles mutaciones en *gyrA* (codón 83 y 106) fueron resistentes a fluoroquinolonas, con cifras de concentración inhibitoria mínima (CIM) de hasta 256 µg/mL (52). En nuestro estudio, el 68.5% de los aislados presentaron mutaciones en el gen *gyrA*, y el 66.9% presentaron mutaciones dobles (codón 83 y 87). Además, todos los aislados ST1193 tenían mutaciones dobles en *gyrA*, lo que coincide con un estudio realizado en Estados Unidos que indica que este clon es resistente a fluoroquinolonas (53). Se puede observar que en nuestro estudio la frecuencia de mutaciones dobles es superior al resto de las regiones, lo que podría ser consecuencia del uso no regulado de antibióticos en Latinoamérica.

Las mutaciones en *pmrB* afectan al sistema de respuesta al estrés de dos componentes PmrA-PmrB, lo que provoca modificaciones en el lipopolisacárido (LPS), reduciendo la atracción electrostática entre la colistina y la membrana externa. Este efecto se manifiesta como una elevación de la CIM de 1 µg/mL en cepas *wild type* a 8-16 µg/mL en cepas que presentan mutaciones en *pmrB*, esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p < 0.05$) (54). Además, se observó que la mutación E123D de este gen, junto a otras sustituciones aminoacídicas, resultan en una CIM superior a 32 µg/mL en ausencia del gen *mcr*. Según análisis *in silico*, esta mutación tiene un SIFT ($p > 0.05$), un predictor de

cambios en la función proteica derivados de modificaciones en la secuencia aminoacídica (55). En un estudio se determinó mediante el análisis de secuencias públicas que el 95% del filogrupo B2 presenta esta mutación. Adicionalmente, mediante pruebas fenotípicas de aislados propios, identificaron un fenotipo sensible (CIM de 0.25-1 $\mu\text{g/mL}$) frente a colistina en presencia de la mutación E123D (56). Aunque la colistina no se encuentra en el esquema de tratamiento frente a ITU, se ha observado un aumento en la detección de cepas resistentes en pacientes en la última década. (22). Por ello, es necesario realizar investigaciones que evalúen a mayor profundidad la expresión del gen *pmrB* mutado.

En el caso de antibióticos de primera línea como fosfomicina y fluoroquinolonas, se identificaron mutaciones puntuales como principal mecanismo de resistencia, en lugar de genes adquiridos. Para las cefalosporinas, se observó una alta frecuencia de betalactamasas tipo CTX-M, lo que sugiere una diseminación significativa de estas enzimas BLEE en la región. Idealmente, el tratamiento de una ITU debería basarse en pruebas de sensibilidad antimicrobiana para determinar el perfil fenotípico de resistencia. No obstante, nuestros hallazgos indican que en Latinoamérica, UPEC ya presenta altos niveles de resistencia a los antibióticos mencionados, lo que limita las opciones terapéuticas convencionales. Ante este panorama, alternativas como nitrofurantoína podría representar una opción más efectiva, dado que muestran menores tasas de resistencia en la región (5).

Al comparar aislados de *E. coli* de ITU, se observó que las cepas positivas para UPEC, según la definición genética de Spurbeck, presentaban proporciones menores de MDR que las negativas, aunque las diferencias observadas no fueron significativas ($p = 0.16$) (30). Estos hallazgos sugieren que podría existir una relación inversa entre el número de genes de resistencia y los de virulencia. Además, se identificó que cepas de UPEC resistentes a fluoroquinolonas podrían estar asociadas con una disminución en la presencia o expresión de genes de virulencia. En cepas resistentes al ácido nalidíxico, hubo una disminución significativa ($p = 0.019$) en la expresión de fimbrias tipo 1 en comparación con las cepas susceptibles en el grupo de cistitis (57).

Entre las limitaciones de este estudio, se debe considerar el reducido número de genomas de *E. coli* analizados, provenientes de cinco países de Latinoamérica, lo cual podría no reflejar la diversidad real de UPEC en la región. Además, no todos los genomas

disponibles en la base de datos del NCBI son de UPEC, a pesar de estar clasificados como ITUs por los autores. Por último, aunque las herramientas bioinformáticas empleadas son robustas y frecuentemente utilizadas en estudios genómicos de RAM, estas se actualizan constantemente y podrían no detectar mutaciones en genes de resistencia que tengan relevancia clínica en el futuro.

Una de las principales fortalezas de este estudio radica en la utilización de una definición funcional basada en genes de virulencia para clasificar UPEC, lo que proporciona una base sólida para futuras investigaciones. Además, la implementación de UPECfinder para facilitar la identificación de UPEC de manera rápida y precisa, a partir de secuencias genómicas. Este enfoque no solo sienta las bases para la aplicación de diseños epidemiológicos más robustos, sino que, combinado con herramientas moleculares, permitirá un seguimiento a largo plazo, con un muestreo más amplio y sistemático en diversas regiones y períodos. De esta manera, se logrará una comprensión más profunda de la evolución de la resistencia antimicrobiana y la dinámica de las infecciones por UPEC, permitiendo estrategias más efectivas para su control y prevención.

VII. Conclusión

En conclusión, este estudio identificó una alta frecuencia de clones de *E. coli* uropatógena de alto riesgo como ST131 y ST1193 en Latinoamérica, junto con una elevada frecuencia de mutaciones en genes relacionados con la resistencia a múltiples antimicrobianos. Ambos clones pertenecen al grupo filogenético B2, que se relaciona con una mayor virulencia y resistencia, representando una amenaza significativa para la salud pública debido a su capacidad de diseminación y persistencia. Además, se identificaron patrones específicos de resistencia antimicrobiana, donde las mutaciones en genes como *gyrA* y *parC* son frecuentes y están relacionados a resistencia a fluoroquinolonas. Los genes de resistencia más prevalentes fueron las betalactamasas de tipo CTX-M, ampliamente asociadas con resistencia a cefalosporinas de tercera generación. Los factores de virulencia más destacados fueron aquellos relacionados con la adhesión y adquisición de hierro, esenciales para ocasionar una ITU. Estos hallazgos subrayan la importancia de estos clones en la epidemiología de las ITU y destacan la necesidad de enfoques específicos para abordar la resistencia a antimicrobianos en Latinoamérica.

VIII. Referencias bibliográficas

1. Rodríguez-Angeles M. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. Salud Pública México. 2002 Sep 1;44. doi: 10.1590/S0036-36342002000500011.
2. Agarwal J, Srivastava S, Singh M. Pathogenomics of uropathogenic *Escherichia coli*. Indian J Med Microbiol. 2012;30(2):141–9. doi: 10.4103/0255-0857.96657.
3. Yang X, Chen H, Zheng Y, Qu S, Wang H, Yi F. Disease burden and long-term trends of urinary tract infections: A worldwide report. Front Public Health. 2022 Jul 27;10:888205. doi: 10.3389/fpubh.2022.888205.
4. Ballesteros-Monrreal MG, Mendez-Pfeiffer P, Barrios-Villa E, Arenas-Hernández MMP, Enciso-Martínez Y, Sepúlveda-Moreno CO, Bolado-Martínez E, Valencia D. Uropathogenic *Escherichia coli* in Mexico, an overview of virulence and resistance determinants: systematic review and meta-analysis. Arch Med Res. 2023 Apr;54(3):247-260. doi: 10.1016/j.arcmed.2023.01.001.
5. Whelan S, Lucey B, Finn K. Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC)-associated urinary tract infections: the molecular basis for challenges to effective treatment. Microorganisms. 2023 Sep;11(9):2169. doi: 10.3390/microorganisms11092169.
6. Terlizzi ME, Gribaudo G, Maffei ME. Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) infections: virulence factors, bladder responses, antibiotic, and non-antibiotic antimicrobial strategies. Front Microbiol. 2017;8:1566. doi: 10.3389/fmicb.2017.01566.
7. Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. Nat Rev Microbiol. 2015 May;13(5):269-84. doi: 10.1038/nrmicro3432.
8. Stapleton AE, Wagenlehner FME, Mulgirigama A, Twynholm M. *Escherichia coli* resistance to fluoroquinolones in community-acquired uncomplicated urinary tract infection in women: a systematic review. Antimicrob Agents Chemother. 2020 Sep 21;64(10):e00862-20. doi: 10.1128/AAC.00862-20. Erratum in: Antimicrob Agents Chemother. 2022 Jan 18;66(1):e0220921. doi: 10.1128/AAC.02209-21.

9. Fukui S, Inui A, Saita M, Kobayashi D, Naito T. Clinical prediction rule for bacteremia with pyelonephritis and hospitalization judgment: chi-square automatic interaction detector (CHAID) decision tree analysis model. *J Int Med Res.* 2022 Jan;50(1):3000605211065658. doi: 10.1177/03000605211065658.
10. Kranz J, Bartoletti R, Bruyère F, Cai T, Geerlings S, Köves B, Schubert S, Pilatz A, Veeratterapillay R, Wagenlehner FME, Bausch K, Devlies W, Horváth J, Leitner L, Mantica G, Mezei T, Smith EJ, Bonkat G. European Association of Urology guidelines on urological infections: summary of the 2024 guidelines. *Eur Urol.* 2024 Jul;86(1):27-41. doi: 10.1016/j.eururo.2024.03.035.
11. Kot B. Antibiotic resistance among uropathogenic *Escherichia coli*. *Pol J Microbiol.* 2019 Dec;68(4):403-15. doi: 10.33073/pjm-2019-048.
12. Sierra-Díaz E, Hernández-Ríos CJ, Bravo-Cuellar A. Antibiotic resistance: microbiological profile of urinary tract infections in Mexico. *Cir Cir.* 2019;87(2):176-182. English. doi: 10.24875/CIRU.18000494.
13. Halaji M, Shahidi S, Atapour A, Ataei B, Feizi A, Havaei SA. Characterization of extended-spectrum β -lactamase-producing uropathogenic *Escherichia coli* among iranian kidney transplant patients. *Infect Drug Resist.* 2020 May 15;13:1429-1437. doi: 10.2147/IDR.S248572.
14. Toussaint KA, Gallagher JC. β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations: from then to now. *Ann Pharmacother.* 2015 Jan;49(1):86-98. doi: 10.1177/1060028014556652.
15. Motamedifar M, Mohebi S, Hadadi M, Amirzadegan H. The prevalence of ESBL and AmpC β -lactamases in uropathogenic isolates of *Escherichia coli* in a tertiary care hospital in southwest Iran. *Gene Rep.* 2020 Sep 1;20:100747. doi: 10.1016/j.genrep.2020.100747.
16. Judge A, Hu L, Sankaran B, Van Riper J, Venkataram Prasad BV, Palzkill T. Mapping the determinants of catalysis and substrate specificity of the antibiotic resistance enzyme CTX-M β -lactamase. *Commun Biol.* 2023 Jan 12;6(1):1-11. doi: 10.1038/s42003-023-04422-z.
17. Nachimuthu R, Kannan VR, Bozdogan B, Krishnakumar V, S KP, Manohar P. CTX-M-type ESBL-mediated resistance to third-generation cephalosporins and conjugative transfer of resistance in gram-negative bacteria isolated from

- hospitals in Tamil Nadu, India. *Access Microbiol.* 2020 Jun 11;3(3):000142. doi: 10.1099/acmi.0.000142.
18. Pavez M, Troncoso C, Osses I, Salazar R, Illesca V, Reydet P, et al. High prevalence of CTX-M-1 group in ESBL-producing enterobacteriaceae infection in intensive care units in southern Chile. *Braz J Infect Dis Off Publ Braz Soc Infect Dis.* 2019;23(2):102–10. doi: 10.1016/j.bjid.2019.03.002.
 19. Ogbolu DO, Alli OAT, Webber MA, Oluremi AS, Oloyede OM. CTX-M-15 is established in most multidrug-resistant uropathogenic Enterobacteriaceae and Pseudomonaceae from hospitals in Nigeria. *Eur J Microbiol Immunol.* 2018 Mar 7;8(1):20–4. doi: 10.1556/1886.2017.00012.
 20. Jacoby GA. Mechanisms of resistance to quinolones. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2005 Jul 15;41 Suppl 2:S120-126. doi: 10.1086/428052.
 21. Falagas ME, Athanasiaki F, Voulgaris GL, Triarides NA, Vardakas KZ. Resistance to fosfomycin: mechanisms, frequency and clinical consequences. *Int J Antimicrob Agents.* 2019 Jan;53(1):22-28. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2018.09.013.
 22. Zakaria AS, Edward EA, Mohamed NM. Genomic insights into a colistin-resistant uropathogenic *Escherichia coli* strain of O23:H4-ST641 lineage harboring mcr-1.1 on a conjugative IncHI2 plasmid from Egypt. *Microorganisms.* 2021 Apr;9(4):799. doi: 10.3390/microorganisms9040799.
 23. Seeger MA, Diederichs K, Eicher T, Brandstätter L, Schiefner A, Verrey F, Pos KM. The AcrB efflux pump: conformational cycling and peristalsis lead to multidrug resistance. *Curr Drug Targets.* 2008 Sep;9(9):729-49. doi: 10.2174/138945008785747789.
 24. Ochoa SA, Ariadna Cruz-Córdova, Luna-Pineda VM, Reyes-Grajeda JP, Cázares-Domínguez V, Escalona G, et al. Multidrug- and extensively drug-resistant uropathogenic *Escherichia coli* clinical strains: phylogenetic groups widely associated with integrons maintain high genetic diversity. *Frontiers in Microbiology.* 2016 Dec 21;7. doi: 10.3389/fmicb.2016.02042.
 25. Lüthje P, Brauner A. Virulence factors of uropathogenic *E. coli* and their interaction with the host. *Adv Microb Physiol.* 2014;65:337-72. doi: 10.1016/bs.ampbs.2014.08.006.

26. Firoozeh F, Zibaei M, Badmasti F, Khaledi A. Virulence factors, antimicrobial resistance and the relationship between these characteristics in uropathogenic *Escherichia coli*. *Gene Rep.* 2022 Jun 1;27:101622. doi:10.1016/j.genrep.2022.101622.
27. Spurbeck RR, Dinh PC, Walk ST, Stapleton AE, Hooton TM, Nolan LK, et al. *Escherichia coli* isolates that carry *vat*, *fyuA*, *chuA*, and *yfcV* efficiently colonize the urinary tract. *Infect Immun.* 2012 Dec;80(12):4115–22. doi: 10.1128/IAI.00752-12.
28. Spurbeck RR, Stapleton AE, Johnson JR, Walk ST, Hooton TM, Mobley HLT. Fimbrial profiles predict virulence of uropathogenic *Escherichia coli* strains: contribution of Ygi and Yad fimbriae. *Infect Immun.* 2011 Dec;79(12):4753–63. doi: 10.1128/IAI.05621-11.
29. Nüesch-Inderbilen MT, Baschera M, Zurfluh K, Hächler H, Nüesch H, Stephan R. Clonal diversity, virulence potential and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* causing community acquired urinary tract infection in Switzerland. *Front Microbiol.* 2017 Dec 1;8:2334. doi: 10.3389/fmicb.2017.02334.
30. García-Meniño I, Lumbreras P, Lestón L, Álvarez-Álvarez M, García V, Hammerl JA, et al. Occurrence and genomic characterization of clone ST1193 clonotype 14-64 in uncomplicated urinary tract infections caused by *Escherichia coli* in Spain. *Microbiol Spectr.* 2022 Jun 29;10(3):e0004122. doi: 10.1128/spectrum.00041-22.
31. Al-Guranie DR, Al-Mayahie SM. Prevalence of *E. coli* ST131 among uropathogenic *E. coli* isolates from Iraqi patients in Wasit province, Iraq. *Int J Microbiol.* 2020;2020:8840561. doi: 10.1155/2020/8840561.
32. Halaji M, Fayyazi A, Rajabnia M, Zare D, Pournajaf A, Ranjbar R. Phylogenetic group distribution of uropathogenic *Escherichia coli* and related antimicrobial resistance pattern: a meta-analysis and systematic review. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022 Feb 25;12:790184. doi: 10.3389/fcimb.2022.790184.
33. Kocsis B, Gulyás D, Szabó D. Emergence and dissemination of extraintestinal pathogenic high-risk international clones of *Escherichia coli*. *Life (Basel).* 2022 Dec 10;12(12):2077. doi: 10.3390/life12122077.

34. Holmes A, Allison L, Ward M, Dallman TJ, Clark R, Fawkes A, Murphy L, Hanson M. Utility of whole-genome sequencing of *Escherichia coli* O157 for outbreak detection and epidemiological surveillance. *J Clin Microbiol.* 2015 Nov;53(11):3565-73. doi: 10.1128/JCM.01066-15.
35. Duggett N, AbuOun M, Randall L, Horton R, Lemma F, Rogers J, Crook D, Teale C, Anjum MF. The importance of using whole genome sequencing and extended spectrum beta-lactamase selective media when monitoring antimicrobial resistance. *Sci Rep.* 2020 Nov 16;10(1):19880. doi: 10.1038/s41598-020-76877-7.
36. Fernández-Sánchez H., King K., Enríquez-Hernández C.B.. Revisión sistemática exploratoria como metodología para la síntesis del conocimiento científico. *Enferm.* 2020 Mar; 17(1): 87-94. doi: 10.22201/eneo.23958421e.2020.1.697.
37. García V, Lestón L, Parga A, García-Meniño I, Fernández J, Otero A, Olsen JE, Herrero-Fresno A, Mora A. Genomics, biofilm formation and infection of bladder epithelial cells in potentially uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) from animal sources and human urinary tract infections (UTIs) further support food-borne transmission. *One Health.* 2023 May 3;16:100558. doi: 10.1016/j.onehlt.2023.100558.
38. Schwengers O, Jelonek L, Dieckmann MA, Beyvers S, Blom J, Goesmann A. Bakta: rapid and standardized annotation of bacterial genomes via alignment-free sequence identification. *Microb Genom.* 2021 Nov;7(11):000685. doi: 10.1099/mgen.0.000685.
39. Darriba D, Posada D, Kozlov AM, Stamatakis A, Morel B, Flouri T. ModelTest-NG: a new and scalable tool for the selection of DNA and protein evolutionary models. *Mol Biol Evol.* 2020 Jan 1;37(1):291-294. doi: 10.1093/molbev/msz189.
40. Stamatakis A. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics.* 2014 May 1;30(9):1312-3. doi: 10.1093/bioinformatics/btu033.
41. Alqasim A, Abu Jaffal A, Alyousef A. Prevalence and molecular characteristics of sequence type 131 clone among clinical uropathogenic *Escherichia coli* isolates in Riyadh, Saudi Arabia. *Saudi J Biol Sci.* 2020 Jan;27(1):296–302. doi: 10.1016/j.sjbs.2019.09.020.

42. Contreras-Alvarado LM, Zavala-Vega S, Cruz-Córdova A, Reyes-Grajeda JP, Escalona-Venegas G, Flores V, et al. Molecular epidemiology of multidrug-resistant uropathogenic *Escherichia coli* O25b strains associated with complicated urinary tract infection in children. *Microorganisms*. 2021 Nov;9(11):2299.
43. Whitmer GR, Moorthy G, Arshad M. The pandemic *Escherichia coli* sequence type 131 strain is acquired even in the absence of antibiotic exposure. *PLoS Pathog*. 2019 Dec 19;15(12):e1008162. doi: 10.1371/journal.ppat.1008162.
44. Pitout J, Peirano G, Chen L, DeVinney R, Matsumura Y. *Escherichia coli* ST1193: following in the footsteps of *E. coli* ST131. *Antimicrob Agents Chemother*. 2022 Jun 6;66. doi: 10.1128/aac.00511-22.
45. Nowrouzian FL, Wold AE, Adlerberth I. *Escherichia coli* strains belonging to phylogenetic group B2 have superior capacity to persist in the intestinal microflora of infants. *J Infect Dis*. 2005 Apr 1;191(7):1078–83. doi: 10.1086/427996.
46. Shahbazi R, Salmanzadeh-Ahrabi S, Aslani MM, Alebouyeh M, Falahi J, Nikbin VS. The genotypic and phenotypic characteristics contributing to high virulence and antibiotics resistance in *Escherichia coli* O25-B2-ST131 in comparison to non- O25-B2-ST131. *BMC Pediatr*. 2023 Feb 3;23(1):59. doi: 10.1186/s12887-023-03866-w.
47. Rodríguez AOG, Pastor HJB, Villafuerte CAG, Barrón YLM de, Miranda DVHC de, Cunza SS. Clasificación filogenética de *Escherichia coli* uropatógena y respuesta inmunometabólica en adultos mayores con infección urinaria en casas de reposo. *Arch Med Col*. 2019;19(2):238–46.
48. Loyola S, Concha-Velasco F, Pino-Dueñas J, Vasquez-Luna N, Juarez P, Llanos C, et al. Antimicrobial resistance patterns and dynamics of extended-spectrum β -lactamase-producing uropathogenic *Escherichia coli* in Cusco, Peru. *Antibiotics*. 2021 May;10(5):485. doi: 10.3390/antibiotics10050485.
49. Yu L, Li W, Xue M, Li J, Chen X, Ni J, et al. Regulatory role of the two-component system BasSR in the expression of the EmrD multidrug efflux in *Escherichia coli*. *Microb Drug Resist Larchmt N*. 2020 Oct;26(10):1163–73. doi: 10.1089/mdr.2019.0412.
50. Ali SA, Al-Dahmoshi HOM. Detection of efflux pumps gene and relation with antibiotics resistance in uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) isolated from

- patients with cystitis. *Iraqi J Sci.* 2022 Jun 30;2388–97. doi: 10.24996/ij.s.2022.63.6.7.
51. Boroumand M, Naghmachi M , Ghatee M A. Detection of phylogenetic groups and drug resistance genes of *Escherichia coli* causing urinary tract infection in southwest Iran. *Jundishapur J Microbiol.* 2021;14(2):e112547. doi: 10.5812/jjm.112547.
 52. Shenagari M, Bakhtiari M, Mojtahedi A, Atrkar Roushan Z. High frequency of mutations in *gyrA* gene associated with quinolones resistance in uropathogenic *Escherichia coli* isolates from the north of Iran. *Iran J Basic Med Sci.* 2018 Dec 1;21(12):1226–31. doi: 10.22038/ijbms.2018.31285.7539.
 53. Tchesnokova V, Radey M, Chattopadhyay S, Larson L, Weaver JL, Kisiela D, et al. Pandemic fluoroquinolone resistant *Escherichia coli* clone ST1193 emerged via simultaneous homologous recombinations in 11 gene loci. *Proc Natl Acad Sci.* 2019 Jul 16;116(29):14740–8. doi: 10.1073/pnas.1903002116.
 54. Lin JC, Kristopher Siu LK, Chang FY, Wang CH. Mutations in the *pmrB* gene constitute the major mechanism underlying chromosomally encoded colistin resistance in clinical *Escherichia coli*. *J Glob Antimicrob Resist.* 2024 Sep 1;38:275–80. doi: 10.1016/j.jgar.2024.06.013.
 55. Luo Q, Yu W, Zhou K, Guo L, Shen P, Lu H, et al. Molecular epidemiology and colistin resistant mechanism of mcr-positive and mcr-negative clinical isolated *Escherichia coli*. *Front Microbiol.* 2017 Nov 17;8:2262. doi: 10.3389/fmicb.2017.02262.
 56. Butters A, Jovel J, Gow S, Liljebjelke K, Waldner C, Checkley SL. *PmrB* Y358N, E123D amino acid substitutions are not associated with colistin resistance but with phylogeny in *Escherichia coli*. *Microbiol Spectr.* 12(10):e00532-24.
 57. Vila J, Simon K, Ruiz J, Horcajada JP, Velasco M, Barranco M. Are quinolone-resistant uropathogenic *Escherichia coli* less virulent? *J Infect Dis.* 2002 Oct 1;186(7):1039–42. doi: 10.1086/342955.

Anexos

Anexo 1. Modelos de regresión logística multinomial para genes predictores individuales.

*

Outcome variable ^a	Predictor variable ^b	P value	Odds ratio	95% CI
UPEC (animal commensal)	<i>vat</i>	<0.0001	13.1	3.99–44.0
UPEC (animal commensal)	<i>fyuA</i>	<0.0001	14.6	6.4–33.0
UPEC (animal commensal)	<i>chuA</i>	<0.0001	8.9	3.9–20.3
UPEC (animal commensal)	<i>yfcV</i>	<0.0001	9.7	3.8–24.3
UPEC (human commensal)	<i>vat</i>	0.0003	2.8	1.6–4.9
UPEC (human commensal)	<i>fyuA</i>	<0.0001	4.5	2.5–8.1
UPEC (human commensal)	<i>chuA</i>	<0.0001	3.2	1.8–5.6
UPEC (human commensal)	<i>yfcV</i>	0.001	2.4	1.4–4.2
UPEC (DEC)	<i>fyuA</i>	<0.0001	20.8	8.3–51.9
UPEC (DEC)	<i>chuA</i>	<0.0001	9.2	3.9–21.7
UPEC (APEC)	<i>fyuA</i>	<0.0001	5.1	2.3–11.2
UPEC (APEC)	<i>chuA</i>	0.01	2.7	1.2–5.8
UPEC (APEC)	<i>yfcV</i>	<0.0001	7.3	3.0–17.7
UPEC (NMEC)	<i>yfcV</i>	0.11	0.5	0.2–1.2

a El grupo de referencia se indica entre paréntesis.

b Solo se muestran los modelos con predictores significativos o casi significativos.

* Obtenido del estudio de Spurbeck *et al.*