



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

PERFIL DE RESISTENCIA
ANTIMICROBIANA,
CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y
DIVERSIDAD GENÓMICA DE
ESCHERICHIA COLI PROVENIENTES
DE INFECCIONES AL TRACTO
URINARIO EN PACIENTES DE
ESTABLECIMIENTOS DE SALUD
PÚBLICOS Y PRIVADOS EN EL PERÚ.

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN
MICROBIOLOGÍA

POOL MARCOS CARBAJAL

LIMA – PERÚ

2025

ASESOR

Dr. Pablo Tsukayama Cisneros

JURADO DE TESIS

DRA. PATRICIA SHEEN CORTAVARRIA

PRESIDENTE

DRA. RUTH HORTENSIA GARCIA DE LA GUARDA

VOCAL

DRA. MONICA JEHNNY PAJUELO TRAVEZAÑO

SECRETARIA

DEDICATORIA

A Dios por su presencia en todo momento de mi vida. A Cinthia, Ayzel y Hadara que son la fuente de inspiración y el motor que impulsa mis aspiraciones personales.

AGRADECIMIENTOS

Al PhD. Pablo Tsukayama y miembros del Laboratorio de Genómica Microbiana de UPCH por el apoyo valioso en mi etapa doctoral. A mis padres Marcial y Paulina por el esfuerzo de formarme como persona.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO

Tesis autofinanciada



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

PERFIL DE RESISTENCIA
ANTIMICROBIANA,
CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y
DIVERSIDAD GENÓMICA DE
ESCHERICHIA COLI PROVENIENTES
DE INFECCIONES AL TRACTO
URINARIO EN PACIENTES DE
ESTABLECIMIENTOS DE SALUD
PÚBLICOS Y PRIVADOS EN EL PERÚ.

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN
MICROBIOLOGÍA

POOL MARCOS CARBAJAL

Informe estándar ⓘ
Informe en inglés no disponible · Más idiomas

16% Similitud ⓘ

estándar
13 Declaraciones ⓘ

Fuentes
Mostrar las fuentes relacionadas ⓘ ⓘ

- 1 Internet ⓘ
hdl.handle.net
14 páginas de texto · 111 palabras que coinciden
- 2 Internet ⓘ
oaci.dmtb.gov.ua
4 páginas de texto · 141 palabras que coinciden
- 3 Internet ⓘ
search.scielo.org
7 páginas de texto · 134 palabras que coinciden
- 4 Internet ⓘ
www.researchgate.net

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN
ABSTRACT

I.	INTRODUCCION	1
II.	OBJETIVOS	15
III.	DESARROLLO DE ARTÍCULOS	16
IV.	DISCUSIONES.....	30
V.	CONCLUSIONES	37
VI.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	39
VIII.	ANEXOS	

RESUMEN

Las infecciones del tracto urinario (ITU) constituyen la segunda causa de enfermedades infecciosas en entornos comunitarios y hospitalarios, siendo más frecuentes en mujeres que en hombres. *Escherichia coli* uropatógena (UPEC, por sus siglas en inglés) coloniza el tracto urogenital y es responsable del 70-90 % de las ITU comunitarias (ITUc) y del 50 % de las ITU hospitalarias (ITUh). Además, esta cepa está incluida en la lista de enterobacterias multidrogoresistentes (MDR) de prioridad crítica, debido a su resistencia a cefalosporinas y carbapenémicos, según la Organización Mundial de la Salud (OMS). Esto representa un grave problema de salud pública tanto para Perú como para el mundo.

En el primer artículo se aborda la creciente preocupación por las enterobacterias multidrogoresistentes (MDR) y productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en pacientes ambulatorios con infecciones urinarias en tres establecimientos privados de Perú. Se realizó un análisis descriptivo en 2016, que incluyó 98 muestras de orina de pacientes de tres ciudades: Lima (costas), Juliaca (sierra) e Iquitos (selva). Se evaluó la resistencia a ocho antibióticos y la producción de betalactamasas mediante el método de Kirby-Bauer y un método confirmatorio de BLEE (CLSI). Los resultados revelaron 18 perfiles de resistencia, con un 18,4 % de aislamientos resistentes a al menos un antibiótico y un alarmante 54,0 % de aislamientos multirresistentes. La producción de BLEE se detectó en el 28,6 % de las cepas de la región de Puno, donde también se observó mayor resistencia en pacientes de 31 a 45 años, especialmente contra antibióticos como ceftazidima, ceftriaxona, gentamicina y trimetoprim-sulfametoxazol. En conclusión, se evidenció variabilidad en los perfiles de resistencia según las regiones, siendo Puno

la más afectada, lo que subraya la necesidad de implementar estrategias de control y prevención en salud pública.

El segundo artículo, realizado en 2018, abordó la resistencia antimicrobiana (RAM) en 70 aislamientos de *Escherichia coli* de pacientes con infecciones del tracto urinario en ocho hospitales públicos de provincias de Perú. La identificación y perfiles de resistencia se llevaron a cabo utilizando el sistema automatizado MicroScan® y una reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) para detectar genes relacionados con la RAM. Se encontró que el 65,7 % de los aislamientos eran multidrogoresistentes (MDR) y el 55,7 % producían BLEE. Los niveles de resistencia fueron elevados para varios antibióticos, destacando ampicilina (77,1 %), ciprofloxacina (74,3 %) y trimetoprim/sulfametoxazol (62,9 %). El gen *bla*_{TEM} fue el más prevalente (31,4 %), seguido por *bla*_{CTX-M} (18,6 %) y *bla*_{SHV} (2,9 %). Estos resultados evidencian una preocupante resistencia a antimicrobianos en *E. coli* en el contexto de las ITU en ciudades de provincias peruanas.

En el tercer artículo se analizó la presencia de ITU en pacientes peruanos, centrándose en aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE en el departamento de Lima. Se realizó un análisis retrospectivo de 118 muestras de orina de pacientes atendidos en dos hospitales de Lima y uno del Callao, entre abril y agosto de 2019. Los resultados mostraron que el 100 % de las bacterias aisladas eran MDR (105 de *E. coli* y 13 de *K. pneumoniae*), con una prevalencia notable de genes BLEE en el 32,2 % de los aislamientos (28,57 % en *E. coli* y 61,53 % en *K. pneumoniae*). El gen BLEE más común fue *bla*_{TEM}, presente en el 45,76 % de las muestras. Además, se observó la coexistencia de genes

BLEE en casi un tercio de todos los aislamientos, evidenciando que la resistencia a los antibióticos constituye una problemática real en los hospitales públicos de Lima y Callao.

Finalmente, en el cuarto estudio se propuso caracterizar genéticamente aislados de UPEC en hospitales de Perú y compararlos con otros genomas de la región, recolectados entre 2018 y 2023. Se secuenciaron y ensamblaron 16 genomas de UPEC de Perú (2018-2019, publicados en los artículos 2 y 3) y se analizaron junto con los 127 genomas disponibles en la base de datos del NCBI. Se identificaron serotipos, secuenciotipos (STs), genes de resistencia y mutaciones relacionadas con la resistencia. El análisis filogenético permitió establecer relaciones entre los aislados y su agrupación en filogrupos. Los resultados mostraron que el clon ST131 fue el más prevalente (42,7 %), seguido por ST1193 (13,3 %). El filogrupo B2 predominó (83,2 %), con una alta frecuencia del serotipo O25:H4. Se encontraron genes de resistencia como *bla*_{TEM-1}, *bla*_{CTX-M-15} y *bla*_{CTX-M-27}, además de mutaciones en *gyrA* y *parC*, asociadas a la resistencia a fluoroquinolonas, especialmente en el clon ST131. Se destaca la alta frecuencia de clones de alto riesgo en Perú y Latinoamérica, junto con una considerable prevalencia de genes y mutaciones relacionadas con la resistencia a múltiples antimicrobianos.

En conclusión, los cuatro artículos abordan de manera integral el alarmante problema de la RAM en enterobacterias, especialmente en UPEC, en el contexto de infecciones urinarias en establecimientos hospitalarios del Perú. A través de distintas metodologías microbiológicas, moleculares y genómicas, se evidencia una alta prevalencia de cepas MDR y productoras de BLEE, lo que representa un desafío

importante para la salud pública. Las tasas de resistencia a antibióticos comunes son preocupantes y varían según la región y el entorno hospitalario. Además, se observa la predominancia de clones de alto riesgo (como ST131) y la coexistencia de diversos genes de resistencia. Estos hallazgos subrayan la urgencia de implementar estrategias efectivas de control y prevención, así como la necesidad de una vigilancia epidemiológica continua para enfrentar la creciente amenaza de la RAM en las infecciones urinarias en el país.

PALABRAS CLAVE

Escherichia coli, infecciones del tracto urinario, resistencia antimicrobiana, virulencia, hospitales, Perú (DeCS/BIREME)

ABSTRACT

Urinary tract infections (UTIs) are the second leading cause of infectious diseases in community and hospital settings, and are more common in women than men. Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) colonizes the urogenital tract and is responsible for 70–90% of community-acquired UTIs (cUTIs) and 50% of hospital-acquired UTIs (hUTIs). Furthermore, this strain is included on the World Health Organization (WHO) list of critical priority multidrug-resistant (MDR) Enterobacteriaceae due to its resistance to cephalosporins and carbapenems. This represents a serious public health problem for both Peru and the world.

The first article addresses the growing concern regarding multidrug-resistant (MDR) and extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae in outpatients with urinary tract infections (UTIs) in three private facilities in Peru. A descriptive analysis was conducted in 2016, including 98 urine samples from patients in three cities: Lima (coastal), Juliaca (highlands), and Iquitos (jungle). Resistance to eight antibiotics and beta-lactamase production were assessed using the Kirby-Bauer method and a confirmatory ESBL method (CLSI). The results revealed 18 resistance profiles, with 18.4% of isolates resistant to at least one antibiotic and an alarming 54.0% of isolates multidrug-resistant. ESBL production was detected in 28.6% of strains from the Puno region, where increased resistance was also observed in patients aged 31 to 45 years, especially against antibiotics such as ceftazidime, ceftriaxone, gentamicin, and trimethoprim-sulfamethoxazole. In conclusion, variability in resistance profiles was evident across regions, with Puno being the most affected, underscoring the need to implement public health control and prevention strategies.

The second article, published in 2018, addressed antimicrobial resistance (AMR) in 70 *Escherichia coli* isolates from patients with urinary tract infections in eight public hospitals in provincial Peru. Resistance identification and profiling were performed using the automated MicroScan® system and polymerase chain reaction (PCR) to detect AMR-related genes. A total of 65.7% of the isolates were found to be multidrug resistant (MDR), and 55.7% produced ESBLs. Resistance levels were high for several antibiotics, most notably ampicillin (77.1%), ciprofloxacin (74.3%), and trimethoprim/sulfamethoxazole (62.9%). The *bla*_{TEM} gene was the most prevalent (31.4%), followed by *bla*_{CTX-M} (18.6%), and *bla*_{SHV} (2.9%). These results demonstrate a worrying antimicrobial resistance in *E. coli* in the context of UTIs in provincial cities in Peru.

The third article analyzed the presence of UTIs in Peruvian patients, focusing on ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates in the department of Lima. A retrospective analysis was performed on 118 urine samples from patients treated at two hospitals in Lima and one in Callao between April and August 2019. The results showed that 100% of the isolated bacteria were MDR (105 *E. coli* and 13 *K. pneumoniae*), with a notable prevalence of ESBL genes in 32.2% of the isolates (28.57% in *E. coli* and 61.53% in *K. pneumoniae*). The most common ESBL gene was *bla*_{TEM}, present in 45.76% of the samples. Furthermore, the coexistence of ESBL genes was observed in almost a third of all isolates, demonstrating that antibiotic resistance is a real problem in public hospitals in Lima and Callao.

Finally, the fourth study aimed to genetically characterize UPEC isolates from hospitals in Peru and compare them with other genomes in the region collected

between 2018 and 2023. Sixteen UPEC genomes from Peru were sequenced and assembled (2018–2019, published in articles 2 and 3) and analyzed alongside the 127 genomes available in the NCBI database. Serotypes, sequence types (STs), resistance genes, and resistance-related mutations were identified. Phylogenetic analysis allowed establishing relationships between isolates and their grouping into phylogroups. The results showed that clone ST131 was the most prevalent (42.7%), followed by ST1193 (13.3%). Phylogroup B2 predominated (83.2%), with a high frequency of serotype O25:H4. Resistance genes such as *bla*_{TEM-1}, *bla*_{CTX-M-15}, and *bla*_{CTX-M-27}, as well as mutations in *gyrA* and *parC*, were found to be associated with fluoroquinolone resistance, particularly in clone ST131. The high frequency of high-risk clones in Peru and Latin America is notable, along with a considerable prevalence of genes and mutations associated with multiantimicrobial resistance.

In conclusion, the four articles comprehensively address the alarming problem of AMR in Enterobacteriaceae, especially in UPEC, in the context of urinary tract infections in hospital settings in Peru. Through various microbiological, molecular, and genomic methodologies, a high prevalence of MDR and ESBL-producing strains is evident, representing a significant challenge for public health. Resistance rates to common antibiotics are concerning and vary by region and hospital setting. Furthermore, the predominance of high-risk clones (such as ST131) and the coexistence of various resistance genes are observed. These findings underscore the urgency of implementing effective control and prevention strategies, as well as the need for continuous epidemiological surveillance to address the growing threat of AMR in urinary tract infections in the country.

KEYWORDS

Escherichia coli, urinary tract infections, antimicrobial resistance, virulence, hospitals, Peru (MeSH/NLM)

I. INTRODUCCIÓN

Hasta el momento, tanto en el ámbito hospitalario como comunitario, se ha reconocido ampliamente que las infecciones del tracto urinario (ITU) son predominantemente ocasionadas por bacterias. Estas infecciones están estrechamente vinculadas a un aumento en la resistencia antimicrobiana (RAM), ya sea de forma natural o adquirida por individuos infectados. Este fenómeno presenta un desafío significativo para los sistemas hospitalarios, ya que la gestión de las infecciones se vuelve más complicada debido a la resistencia creciente a los tratamientos antimicrobianos. (1). En su mayoría, las ITU encuentran su origen en bacterias gramnegativas, destacando especialmente *Escherichia coli*. Esta bacteria, responsable de la colonización fisiológica en el intestino grueso, se asocia con numerosos casos de resistencia antimicrobiana, conocidos como multidrogorresistencia (MDR) (2). Se denomina *E. coli* BLEE (Betalactamasas de Espectro Extendido) a un conjunto de bacterias con la capacidad de descomponer penicilinas, monobactams y cefalosporinas de tercera generación. A pesar de que estas cepas pueden ser inhibidas por ácido clavulánico y sulbactam, y en su mayoría muestran susceptibilidad a los carbapenémicos, plantean un desafío considerable en el tratamiento de las ITU debido a su habilidad para resistir múltiples clases de antimicrobianos. En la actualidad, se han identificado más de 200 variantes diferentes de BLEE, siendo los tipos más prevalentes aquellos con mutaciones genéticas en genes como SHV, TEM y CTX-M. Por ejemplo, el gen CTX-M es el más común en Sudamérica y Europa, y su presencia se asocia con la resistencia simultánea a fluoroquinolonas por parte de la bacteria. La diversidad genética encontrada dentro de las BLEE representa un desafío adicional en la gestión clínica,

ya que la resistencia a múltiples antimicrobianos limita las opciones de tratamiento efectivo. Por lo tanto, es crucial contar con un conocimiento detallado de la prevalencia de estos genes en diferentes regiones geográficas para desarrollar estrategias de manejo adecuadas y optimizar el tratamiento de las infecciones del tracto urinario causadas por bacterias productoras de BLEE, como *E. coli*. Además de *E. coli*, las enzimas BLEE también pueden encontrarse en otras bacterias, aunque son más comunes en *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* y *Proteus mirabilis*. La emergencia de cepas de *E. coli* causantes de ITU con MDR se ha convertido en un problema de salud pública actual y preocupante. Estos microorganismos presentan no solo mutaciones y mecanismos de resistencia, sino también genes de virulencia que les permiten colonizar e infectar células epiteliales del tracto urinario tanto inferior como superior. Esta combinación de factores hace que sea aún más difícil tratar eficazmente las ITU causadas por estas cepas de *E. coli*, lo que pone en riesgo la salud de la población nacional. (3).

En 2014, el Organismo Andino de Salud, con el apoyo del Convenio Hipólito Unanue (ORAS-CONHU), proporcionó información sobre el diagnóstico situacional de la RAM en Perú. Sin embargo, desde entonces no se ha actualizado el mapa situacional de la RAM en el país, ya que esta información no está incluida en el reporte de vigilancia epidemiológica nacional, a pesar de que se ha aprobado un plan nacional para combatir la resistencia a los antimicrobianos desde 2017 hasta 2021. Para mejorar esta situación, es importante reconocer la importancia de contar con datos actualizados sobre la RAM en Perú. Esto permitirá tomar decisiones informadas y desarrollar estrategias efectivas para prevenir y controlar la propagación de las bacterias resistentes a los antimicrobianos. Sin embargo, para

poder enfrentar de manera efectiva la RAM y mejorar el tratamiento clínico de las infecciones, es necesario adoptar un enfoque más integral y coordinado. Una posible mejora sería promover la creación de una base de datos nacional que centralice y relacione la información sobre la epidemiología de las infecciones causadas por *E. coli* en el medio extrahospitalario, incluyendo las muestras urinarias, el perfil de resistencia y los mecanismos de resistencia presentes. Esta base de datos sería de acceso público para los profesionales de la salud y los investigadores, lo que permitiría tener una visión más completa y actualizada de la situación de la RAM en el país

Por consiguiente, esta investigación tiene como objetivo principal caracterizar mediante pruebas fenotípicas y genómicas aislados de *E. coli* provenientes de pacientes con ITU de hospitales públicos en el Perú comprendiendo la resistencia antimicrobiana y la epidemiología de la ITU con resultados que contribuirán al desarrollo de estrategias de tratamiento más efectivas para la ITU.

1.1. Antecedentes

Las ITU son una de las causas más importantes de morbilidad en todo el mundo. El principal agente aislado es la *E.coli* uropatógena (UPEC), el cual para su manejo requiere principalmente antibioticoterapia, (4). Con el paso de los años, se ha registrado un aumento de la resistencia microbiana por todo el mundo, lo que ha desencadenado un nivel de alerta que impulsa al cuidado y seguimiento de los nuevos mecanismos de resistencia, sin embargo, en el Perú, la evaluación de susceptibilidad antimicrobiana no está incluida en el sistema de vigilancia epidemiológica (5) lo que supone una importante problemática de salud pública. El

aumento de microorganismos productores de BLEE y carbapenemasas ha sido ampliamente descrito por diversos estudios en el mundo.

Es así que, Calderón y colaboradores en el 2003 determinaron cómo ocurría la resistencia antimicrobiana y la transmisión de *K. pneumoniae* y *Enterobacter cloacae* de una unidad de cuidados intensivos neonatal. Así mismo concluyeron que *K. pneumoniae* y *E. cloacae* producían una BLEE de Tipo SHV-5 que se transfería a otras especies bacterianas por un mal manejo de medidas sanitarias asistenciales (6).

Mientras, Arce y colaboradores en el 2013, trabajaron cepas de *E. coli* en pacientes que tuvieron infección urinaria comunitaria y hospitalaria en la región Lambayeque. Demostrando la presencia de BLEE con el gen CTX-M en aislados de *E. coli* a partir de urocultivos de pacientes de la comunidad, aludiendo a un uso indiscriminado de antibióticos en la población. (7)

Según Yong Chong *et al*, las tasas de BLEE en hospitales de Estados Unidos muestran un crecimiento (7.8% en 2010 y 18.3% en 2014). En Asia, las tasas de *E. coli* BLEE en estos hospitales eran del 20 a 40%, y así la inclinación creciente en diversos países. En China se encontró una alta detección de BLEE (60-70%), siendo para *E. coli* un incremento entre el 50 al 60%) (8).

Es así que en el 2015 se han reportado aumentos en la frecuencia de microorganismos de BLEE en Europa: por ejemplo, en España va del 5 al 10 % de las cepas *E. coli* aisladas. La resistencia antimicrobiana tiene elevadas tasas de morbilidad como nuestro país (9).

En el 2017 se ejecutó un meta análisis, en el cual se demostró que las medidas de detección de BLEE en centros de atención de salud a largo plazo van del 10 a 60%

en Países europeos y 50% en China, demostrando semejanza a los datos recogidos en hospitales (8).

Ya que la producción de BLEE por enterobacterias es bien reconocida a nivel mundial, los carbapenems han sido un tipo importante de antibióticos para el tratamiento de estas bacterias debido a que la resistencia a estos fármacos era muy poco común hasta hace poco, por lo cual la resistencia a este tipo de antibiótico es especialmente alarmante.

En Estados Unidos, la NHSN (National Healthcare Safety Network) mostró que la difusión de cepas de *K. pneumoniae* carbapenemasas en estos años, ha llevado a un aumento en la prevalencia de las enterobacterias resistentes a carbapenems (10). En Chile, en la vigilancia de de la RAM en el 2012 se confirmaron 38 de enterobacterias productoras de carbapenemasas de las 241 muestras recibidas. (11) Actualmente se han realizado trabajos de brotes por *K. pneumoniae* multirresistente mediante secuenciamiento de nueva generación (NGS) y análisis genómico del resistoma de *Acinetobacter baumannii* multirresistente manteniéndose en forma persistente en hospitales colombianos (12).

Tiruvayipati et al en el 2011, se realizó en la india secuenciamiento genómico completo de la cepa NA114, una cepa UPEC con fenotipo multirresistente y con capacidad de producir BLEE. El análisis de la secuencia del genoma y usando genómica comparativa permitira comprender la composición genética de diversas cepas de UPEC e impulsará el desarrollo de nuevos métodos diagnósticos (13).

Paniagua-Contreras et al utilizaron 24 cepas UPEC aisladas de 20 mujeres y 4 hombres con infecciones urinarias no recurrentes adquiridas en la comunidad en México de Agosto a diciembre 2013. El objetivo fue caracterizar totalmente los

genomas mediante secuenciación paralela masiva para determinar la prevalencia y distribución de genes de virulencia y resistencia a antibióticos asociados con diferentes serotipos y grupos filogenéticos, encontrando cepas que exhiben entre 138-197 genes de virulencia y 29 genes de resistencia a antibióticos relacionados con los antimicrobianos que se usan comúnmente en la práctica clínica (14).

Por lo tanto, son escasos los estudios que involucran el análisis de genomas completos que brindan una mayor información clínica y epidemiológica de patógenos con importancia en salud pública. (15)

En Perú, se han realizado estudios aislados sobre la presencia de genes de resistencia en *E.coli* uropatógenas en hospitales. Este microorganismo también se encuentra en la comunidad, lo que sugiere un uso indiscriminado de antimicrobianos en nuestro entorno. Por lo tanto, este estudio tiene como objetivo evaluar la distribución geográfica a nivel genómico mediante técnicas como secuenciamiento genómico total de estos microorganismos para ayudar en el diseño de medidas de control que puedan mitigar los efectos de la resistencia antimicrobiana en nuestro país.

1.2. Planteamiento del problema

El uso indiscriminado de antibióticos ha provocado la aparición de bacterias MDR, lo que compromete la eficacia de las terapias antimicrobianas en hospitales. (16) En 2017, la Organización Mundial de la Salud (OMS) identificó “patógenos prioritarios” que requieren investigación y promovió el desarrollo de nuevos antibióticos para combatirlos. Entre estos patógenos, destacan las bacterias Gram negativas MDR, que pueden evadir la acción de los antibióticos y transmitir genes

de resistencia a otras especies bacterianas mediante transferencia genética horizontal a través de plásmidos y transposones. (17)

La RAM, con su alto costo en los sistemas de salud, prolonga las estancias hospitalarias y requiere tratamientos con drogas costosas y difíciles de encontrar. Además, la falta de herramientas efectivas para prevenir y tratar los microorganismos resistentes, junto con el limitado acceso a nuevos antimicrobianos, puede aumentar el número de pacientes con fallos en el tratamiento e incluso provocar fallecimientos debido a infecciones. (18,19)

En el mundo, hay muchos investigadores que han puesto su atención en el estudio de estos microorganismos hospitalarios con el objetivo de entender mejor sus mecanismos de resistencia. A pesar del creciente interés global en el estudio de microorganismos hospitalarios y sus mecanismos de resistencia, la investigación local es insuficiente. Específicamente, se han realizado pocos estudios en microorganismos portadores de genes de resistencia, como las BLEE, AMPc (serin-betalactamasas) y carbapenemasas. En Sudamérica, donde reside aproximadamente el 6% de la población mundial, los sistemas de salud pública enfrentan deficiencias crecientes, a pesar del aumento económico y poblacional. (20) La resistencia antimicrobiana está en aumento en Sudamérica, afectando tanto a las enterobacterias nosocomiales como a las adquiridas en la comunidad. En esta región, *E. coli* y *Klebsiella sp.* presentan una mayor prevalencia de BLEE en comparación con otras partes del mundo. (21) Por ejemplo, en el Perú, las tasas de resistencia antimicrobiana son del 50% para *E. coli* BLEE y del 71% para *K. pneumoniae* BLEE, según datos de la Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (ReLAVRA). Sin embargo, los informes sobre

este problema clínico en nuestro país aún no están completos. (22) Un estudio realizado en la región de la selva de la ciudad de Iquitos en 2017 reveló que el 69.2% de los aislamientos uropatógenos eran productores de BLEE, tanto en *E. coli* como en *K. pneumoniae*. Esta investigación subraya la necesidad urgente de abordar la resistencia antimicrobiana a nivel local y global. (23) La mayoría de las infecciones del tracto urinario se atribuyen a una única especie bacteriana, como *E. coli*. Sin embargo, cuando se presentan infecciones recurrentes y complicadas, debido a manejo inadecuado de antibióticos, diagnóstico erróneo, abandono del tratamiento y otros factores, esto conduce al surgimiento de bacterias multirresistentes y a una menor sensibilidad a los antimicrobianos. Para abordar este problema, es esencial comprender los mapas microbiológicos locales de RAM, así como la información clínica y epidemiológica del paciente. Esto permitirá establecer criterios adecuados para la elección de antibióticos en casos de infecciones del tracto urinario, tanto en entornos hospitalarios como en la comunidad. (24) Es importante destacar que actualmente enfrentamos una etapa en la que los antibióticos están perdiendo eficacia. Por lo tanto, es crucial explorar otras opciones de tratamiento y diagnóstico. Investigaciones recientes han utilizado la secuenciación del genoma completo para analizar directamente los patógenos responsables de infecciones urinarias sintomáticas en mujeres. Por ejemplo, en un estudio realizado en Corea, se descifró la secuencia genética completa de una cepa UPEC 26-1, altamente virulenta, aislada de una muestra de orina de un paciente con infección del tracto urinario. Este análisis reveló que la cepa tenía la capacidad de transmitir sus genes horizontalmente. (25)

Los estudios realizados, en conjunto con la investigación en animales, han permitido una mejor comprensión de los detalles moleculares de cómo los microorganismos causantes de infecciones del tracto urinario se adhieren, colonizan y adaptan al ambiente de la vejiga. Estos microorganismos son capaces de evadir el sistema inmunológico y persistir, propagándose a lo largo del tracto urinario. Se ha identificado que los factores de virulencia son fundamentales en este proceso y podrían ser objetivos potenciales para prevenir y contrarrestar los mecanismos patogénicos relevantes en las infecciones del tracto urinario. (26)

De acuerdo con diversas publicaciones, se ha evidenciado que ni las pruebas fenotípicas clásicas ni los ensayos de PCR multiplex son suficientemente precisos para identificar a la *E. coli* y sus filogrupos. No obstante, con el incremento en la disponibilidad de secuencias genómicas completas, el equipo de Clermont ha desarrollado una interfaz web denominada ClermonTyper. Esta herramienta permite asignar una secuencia de cepa específica a clados de *Escherichia coli*, como *E. albertii* y *E. fergusonii*, así como a los siete filogrupos principales de *E. coli* (27)

Por lo tanto, considerando lo anterior, es esencial realizar estudios que investiguen la diversidad genómica de la bacteria *E. coli* uropatógena. Esto se puede lograr mediante métodos como la secuenciación genómica y el análisis bioinformático. De esta manera, podremos identificar los genes relacionados con la resistencia a los antibióticos y la virulencia. Al combinar esta información con los factores clínico-epidemiológicos, podremos determinar nuevos blancos terapéuticos, desarrollar tratamientos más personalizados y efectivos, y reducir la resistencia a los antibióticos para las infecciones causadas por esta bacteria en nuestro país.

1.3. Justificación del estudio

La resistencia antimicrobiana es un problema global de salud pública que ha aumentado debido al desarrollo insuficiente de nuevos antibióticos por parte de la industria farmacéutica y al uso irracional de estos medicamentos. (28,29). Desde 2020 hasta 2023, la OMS ha implementado una iniciativa global para contener la resistencia antimicrobiana. Esta iniciativa, conocida como “Una Salud” (One Health), integra la salud humana, animal y medioambiental. Uno de sus objetivos es entender los factores que contribuyen a la propagación de mecanismos de resistencia bacteriana. Los mecanismos de resistencia bacteriana pueden ser adquiridos o intrínsecos. Los más estudiados son aquellos transmitidos por intercambio genético, ya que permiten que los genes de resistencia se dispersen en el entorno a través de transformación, transducción o conjugación. (30,31) La transferencia horizontal de plásmidos con genes de resistencia a diferentes antibióticos en enterobacterias es un aspecto clave de este problema. (32,33) El aumento de la resistencia en las enterobacterias ha motivado numerosos estudios epidemiológicos. Sin embargo, estos datos pueden variar dependiendo de la región y del periodo de tiempo estudiado. (34,35,36).

Entre los organismos más implicados en infecciones nosocomiales y comunitarias se encuentran las bacterias de la familia Enterobacteriaceae, especialmente *Escherichia coli*. Esta bacteria es una de las principales causantes de infecciones del tracto urinario y presenta diversos mecanismos de resistencia, tanto naturales como adquiridos. Esto añade complejidad a la enfermedad y requiere una mayor atención en la elección del tratamiento antibiótico. Además, se ha identificado a las *E. coli* productoras de BLEE como resistentes a los β -lactámicos (como penicilinas,

monobactams y cefalosporinas) (37). La *E. coli* causante de infecciones urinarias puede resistir la acción de los antibióticos gracias a mecanismos adicionales, como variaciones en la permeabilidad de la membrana interna, inhibición enzimática o modificaciones de la membrana y componentes de glicoproteínas de la pared bacteriana. (38). Por todo lo anterior, se recomienda realizar estudios en las diferentes poblaciones y regiones del Perú para delimitar y entender la verdadera problemática de la resistencia a múltiples fármacos en nuestro país. (39,40,41).

Además de las enzimas de tipo BLEE, se está informando cada vez más sobre las enzimas AmpC codificadas por plásmidos (pAmpC), que también contribuyen a la resistencia a las cefalosporinas. Los microorganismos resistentes a las cefalosporinas suelen presentar un perfil MDR, lo que aumenta el riesgo de fracaso del tratamiento con cefalosporinas y otros agentes antimicrobianos. Los factores de resistencia a otros antibióticos pueden estar ubicados en diferentes estructuras genéticas, a menudo junto con ESBL o AmpC. Estos factores incluyen mecanismos transferibles de resistencia a quinolonas (TMQR) y resistencia a macrólidos (TMMR). (7) En 2017, Palma y sus colaboradores caracterizaron los niveles y mecanismos de resistencia a betalactámicos, quinolonas y macrólidos en 62 aislamientos de *Escherichia coli* causantes de bacteriemia en niños peruanos. Encontraron una variedad de genes que codifican BLEE, especialmente *bla*_{CTX-M-15}, en Lima. También sugirieron la necesidad de vigilar la resistencia a la azitromicina y controlar eficazmente el uso de diversos agentes antimicrobianos en casos de bacteriemia. (42)

El conocimiento de la prevalencia local de BLEE es fundamental para definir estrategias terapéuticas empíricas apropiadas para organismos multirresistentes

(MDR) sobre todo en países de ingresos económicos bajos donde el tratamiento de segunda línea a menudo no está disponible. Es por eso que Guiral y colaboradores en el año 2017 realizaron un estudio en Mozambique que tuvo como objetivo evaluar y caracterizar la presencia de BLEE y especialmente de *Escherichia coli* MDR productora de CTX-M aislada de pacientes con ITU y bacteriemia, logrando observar la presencia de una co-selección de determinantes resistentes a cefalosporinas de tercera generación en el área de estudio a pesar del acceso limitado a estos antibióticos. (43)

La secuenciación del genoma completo (WGS, por sus siglas en inglés) está revolucionando el trabajo de los laboratorios microbiológicos de referencia en todo el mundo. El potencial de las secuencias genómicas completas de un aislado o muestra es enorme, ya que pueden mejorar los programas de vigilancia de enfermedades infecciosas y fortalecer las investigaciones epidemiológicas.

Actualmente, se reconoce que la WGS tiene el potencial para identificar brotes de enfermedades, lo que añade un valor significativo en la detección de grupos basados en el genoma. Además, permite el seguimiento de cepas con marcadores específicos relevantes para la salud, como la antigenicidad, virulencia, transmisibilidad y marcadores de resistencia. También facilita el seguimiento de la eficacia de las medidas de control, como los programas de vacunación y eliminación. Alleweldt y colaboradores en el artículo “Evaluación económica de la secuenciación del genoma completo para la identificación y vigilancia de patógenos: resultados del caso estudios en Europa y las Américas 2016 a 2019” evaluaron 8 laboratorios de referencia para entender mejor la diferencia de costos entre los métodos convencionales (como PCR) y WGS en el contexto de la identificación y vigilancia

de patógenos llegando a la conclusión que WGS proporciona un nivel de información adicional que equilibra con creces los costos adicionales (equipamiento y consumibles) si se usa de manera efectiva y sostenida. (44)

En los últimos años, el secuenciamiento genómico completo ha demostrado ser una herramienta prometedora para comprender la organización del genoma de bacterias, especialmente en el contexto de infecciones del tracto urinario. Un estudio realizado en Arabia Saudita en 2018 se centró en cepas UPEC resistentes a carbapenémicos. Mediante esta técnica, se identificaron clonas con variantes genéticas de virulencia y resistencia antimicrobiana circulantes a nivel mundial. Estos hallazgos son relevantes para definir nuevas estrategias de tratamiento en hospitales públicos y privados (45). También, en años recientes, al usar secuenciamiento del genoma completo no solo permitirá caracterizar genes de virulencia de diversas UPEC sino además identificar relaciones filogenéticas entre clonas y filogrupos, como es el estudio mencionado por Sanz y colaboradores al investigar la distribución de clones epidémicos globales de ExPEC productoras de carbapenemasas en Argentina en aislamientos clínicos representativos recuperados entre julio de 2008 y marzo de 2017. (46)

En el contexto peruano, los trabajos que involucran la caracterización del genoma completo de *E. coli* causantes de infecciones urinarias son escasos. Por lo tanto, el presente estudio tiene un valor científico significativo al caracterizar tanto fenotípica como genotípicamente los mecanismos de resistencia y los factores de virulencia en los genomas de *E. coli* responsables de infecciones del tracto urinario en hospitales peruanos. Los resultados obtenidos proporcionarán información

crucial sobre la presencia y distribución de estos genes en el Perú, lo que puede guiar estrategias más efectivas para el manejo de estas infecciones.

1.4. Pregunta de Investigación

¿Cuál es el perfil de resistencia antimicrobiana, caracterización molecular y la diversidad genómica de *Escherichia coli* aisladas de infecciones del tracto urinario en pacientes atendidos en establecimientos de salud públicos y privados en el Perú?

II. OBJETIVOS

Objetivo general:

Determinar el perfil de resistencia antimicrobiana, caracterización molecular y diversidad genómica de *Escherichia coli* provenientes de infecciones al tracto urinario en pacientes de establecimientos de salud públicos y privados en el Perú,

Objetivo específicos:

- Determinar el perfil de resistencia antimicrobiana en *Escherichia coli* aisladas de infecciones del tracto urinario en pacientes de establecimientos de salud públicos y privados en el Perú.
- Identificar y caracterizar los genes de resistencia y virulencia en los genomas de *Escherichia coli* aisladas de infecciones del tracto urinario en paciente establecimientos de salud públicos y privados en el Perú.
- Analizar la diversidad filogenética de los genomas de *Escherichia coli* aisladas de infecciones del tracto urinario en pacientes de establecimientos de salud públicos y privados en el Perú.

III. DESARROLLO DE ARTÍCULOS

Artículo #1: Comparación de los perfiles de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* uropatógena e incidencia de la producción de betalactamasas de espectro extendido en tres establecimientos privados de salud de Perú

Marcos-Carbajal, P., Galarza-Pérez, M., Huancahuire-Vega, S., Otiniano-Trujillo, M., & Soto-Pastrana, J. (2020). Comparación de los perfiles de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* uropatógena e incidencia de la producción de betalactamasas de espectro extendido en tres establecimientos privados de salud de Perú. *Biomédica*, 40, 139-147.

doi: 10.7705/biomedica.4772

Biomédica 2020;40(Supl.1):139-47
doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.4772>



Comunicación breve

Comparación de los perfiles de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* uropatógena e incidencia de la producción de betalactamasas de espectro extendido en tres establecimientos privados de salud de Perú

Pool Marcos-Carbajal¹, Marco Galarza-Pérez^{1,2}, Salomón Huancahuire-Vega¹, Miguel Otiniano-Trujillo¹, Javier Soto-Pastrana³

¹Laboratorio de Microbiología, Escuela Profesional de Medicina Humana, Universidad Peruana Unión, Lima, Perú

²Laboratorio de Referencia Nacional de Biotecnología y Biología Molecular, Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú

³Laboratorio de Microbiología, Hospital Nacional Docente "Madre Niño San Bartolomé", Lima, Perú

Introducción. La aparición de enterobacterias multirresistentes y productoras de betalactamasas de espectro extendido en pacientes ambulatorios con infecciones urinarias representa un problema de salud pública en Perú.

Objetivo. Comparar los perfiles de resistencia de *Escherichia coli* uropatógenas e identificar los fenotipos de cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido en tres establecimientos privados de salud localizados en las regiones de la costa, la sierra y la selva de Perú.

Materiales y métodos. Se llevó a cabo durante el 2016 un estudio descriptivo de 98 muestras de orina de pacientes con infección urinaria, 35 procedentes de Lima (costa), 38 de Juliaca (sierra) y 25 de Iquitos (selva), en el que se determinó la sensibilidad antimicrobiana utilizando ocho discos antibióticos.

Asimismo, se evaluó la producción de betalactamasas de espectro extendido con discos de cefotaxima, de ceftazidima o de su combinación, con ácido clavulánico en agar Mueller-Hinton.

Resultados. Se identificaron 18 perfiles de resistencia que incluían desde los sensibles a todos los antibióticos hasta los resistentes simultáneamente a siete antibióticos, con el 18,4 % de aislamientos resistentes a un antibiótico y el 54,0 % de multirresistentes. Se detectó producción de betalactamasas en el 28,6 % de las cepas procedentes de la región de Puno. También, se observó un mayor número de casos en el rango de edad de 31 a 45 años con resistencia a ceftazidima, ceftriaxona, gentamicina y trimetoprim-sulfametoxazol en el establecimiento de salud de Puno.

Conclusión. Los perfiles de resistencia variaron según la localización geográfica del establecimiento de salud, observándose mayor resistencia a los antibióticos en la región de la sierra de Perú, con el 28,6 % de cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido.

Palabras clave: Enterobacteriaceae; pruebas antimicrobianas de difusión por disco; infecciones urinarias; beta-lactamasas; resistencia a medicamentos; Perú.

Recibido: 25/01/2019
Aceptado: 19/10/2019
Publicado: 29/10/2019

Citación:
Marcos-Carbajal P, Galarza-Pérez M, Huancahuire-Vega S, Otiniano-Trujillo S, Soto-Pastrana J. Comparación de los perfiles de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* uropatógena e incidencia de la producción de betalactamasas de espectro extendido en tres establecimientos privados de salud de Perú. *Biomédica*. 2020;40(Supl.1):139-47. <https://doi.org/10.7705/biomedica.4772>

Correspondencia:
Davi Marcos-Carbajal | Laboratorio de Microbiología

Durante el año 2016, se llevó a cabo un estudio descriptivo en pacientes de 1 a 91 años con infección urinaria, atendidos de manera ambulatoria en tres clínicas privadas de Perú: la Clínica Good Hope en Lima, la Clínica Americana Juliaca en Puno y la Clínica Ana Stahl en Iquitos. En este estudio, se analizaron 98 muestras de orina con aislamiento microbiológico de *Escherichia coli*. Los aislamientos se enviaron al Laboratorio de Microbiología de la Universidad Peruana Unión, donde se confirmó su identidad mediante pruebas bioquímicas convencionales y el sistema automatizado Vitek 2™. A continuación, se evaluó la sensibilidad a los antibióticos ceftazidima, ceftriaxona, ciprofloxacina, gentamicina, trimetoprim-sulfametoxazol, imipenem, amikacina y nitrofurantoína. Además, se detectó la presencia de BLEE utilizando agar Mueller-Hinton con discos de cefotaxima, cefotaxima-ácido clavulánico, ceftazidima y ceftazidima-ácido clavulánico. Para garantizar la fiabilidad de los resultados, se emplearon cepas de referencia como *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *E. coli* ATCC 25922, siguiendo los estándares del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Los datos microbiológicos y clínicos fueron procesados con Microsoft Excel 2013, y las proporciones de cepas sensibles y resistentes se calcularon conforme a las normas del CLSI. Finalmente, el estudio contó con la aprobación de los establecimientos de salud participantes y del Comité de Investigación y Ética de la Universidad Peruana Unión, asegurándose en todo momento la confidencialidad de los datos de los pacientes.

En el estudio de 98 pacientes con infección urinaria, el 26,5 % tenía entre 31 y 45 años, mientras que el 24,5 % eran mayores de 61 años. El 38,8 % de los cultivos positivos provino de Puno, el 35,7 % de Lima y el 25,5 % de Iquitos. Se identificaron 18 perfiles de resistencia antimicrobiana en los aislamientos de

Escherichia coli, siendo el fenotipo "pansensible" el más común (27,6 %), seguido de resistencia a un antibiótico (18,4 %). El perfil más frecuente de resistencia a cinco antibióticos (9,2 %) incluía ceftazidima, ceftriaxona, ciprofloxacino, gentamicina y trimetoprim-sulfametoxazol. En los tres establecimientos, la mayor resistencia fue contra trimetoprim-sulfametoxazol (61,2 %), seguida de ciprofloxacina (48 %), ceftazidima (31,6 %), ceftriaxona (30,6 %) y gentamicina (31,6 %). La resistencia más baja se observó con imipenem, nitrofurantoína y amikacina. Las cepas con fenotipo de BLEE mostraron mayor resistencia a ceftazidima, ceftriaxona, ciprofloxacino y gentamicina, con porcentajes de resistencia del 28,6 % al 20,4 %, mientras que las cepas sin ese fenotipo presentaron mayor resistencia a trimetoprim-sulfametoxazol y nitrofurantoína.

Artículo #2: Caracterización microbiológica y molecular de la resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* uropatógenas de hospitales públicos peruanos

Marcos-Carbajal, P., Salvatierra, G., Yareta, J., Pino, J., Vásquez, N., Diaz, P., ... & Tsukayama, P. (2021). Caracterización microbiológica y molecular de la resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* uropatógenas de hospitales públicos peruanos. *Revista peruana de medicina experimental y salud pública*, 38, 119-123.

<http://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2021.381.6182>.

ORIGINAL BREVE

CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA Y MOLECULAR DE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE *Escherichia coli* UROPATÓGENAS DE HOSPITALES PÚBLICOS PERUANOS

Pool Marcos-Carbajal^{1,2,*}, Guillermo Salvatierra^{3,2,b,c}, José Yareta^{1,*}, Jimena Pino^{3,3,*}, Nancy Vásquez^{3,*}, Pilar Díaz^{4,*}, Isabel Martínez^{5,*}, Percy Asmat^{6,*}, Carlos Peralta^{7,*}, Caridad Huamani^{8,7,*}, Alexander Briones^{9,*}, Manuel Ruiz^{10,*}, Niomedes Laura^{10,*}, Álvaro Luque^{11,*}, Leonel Arapa^{12,*}, Pablo Tsukayama^{2,*}

¹ Laboratorio de Investigación en Biología Molecular, EP Medicina Humana, Universidad Peruana Unión, Lima, Perú.

² Laboratorio de Genómica Microbiana, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú.

³ Laboratorio de Microbiología, Hospital Antonio Lorena, Cuzco, Perú.

⁴ Servicio de Microbiología, Laboratorio de Referencia Regional Salud Pública San Martín, Tarapoto, Perú.

⁵ Servicio de Microbiología, Laboratorio de Referencia Regional de Salud Pública Tumbes, Tumbes, Perú.

⁶ Servicio de Microbiología, Laboratorio de Referencia Regional Salud Pública, La Libertad, Trujillo, Perú.

⁷ Área de Microbiología, IPRESS Jorge Chávez, Madre de Dios, Perú.

⁸ Servicio de Microbiología, Hospital Regional de Loreto, Iquitos, Perú.

⁹ Área de Microbiología, Clínica Adventista Ana Stahl, Iquitos, Perú.

¹⁰ Servicio de Microbiología, Laboratorio de Referencia Regional de Salud Pública Huancavelica, Huancavelica, Perú.

¹¹ Área de Microbiología, Clínica Americana Juliaca, Juliaca, Perú.

¹² Laboratorio de Microbiología, Hospital Carlos Monge Medrano, Juliaca, Perú.

* Biólogo; ^b médico veterinario; ^c magister en Biología Molecular; ^d tecnólogo médico; ^e técnico en laboratorio; ^f doctor en Microbiología Molecular.

RESUMEN

Se caracterizó la resistencia antimicrobiana de 70 aislados de *Escherichia coli* obtenidos de pacientes con infección del tracto urinario (ITU) provenientes de ocho hospitales públicos en el Perú. Los perfiles de resistencia fueron identificados mediante el uso del sistema automatizado MicroScan®. Se utilizó una reacción en cadena de la polimerasa convencional para la detección de los genes bla_{TEM} , bla_{CTX-M} , bla_{SHV} y bla_{PER} . El 65,7% (46/70) de los aislados presentó un fenotipo multidrogorresistente y el 55,7% (39/70) fue identificado como productores de betalactamasas de espectro extendido. Se detectaron altos niveles de resistencia para ampicilina (77,1%), ciprofloxacina (74,3%), trimetoprim/sulfametoxazol (62,9%), cefepime (57,1%) y cefuroxima (57,1%). El gen bla_{TEM} fue el más frecuente con un 31,4%, seguido por bla_{CTX-M} (18,6%) y bla_{SHV} (2,9%). Los resultados evidencian altos niveles de resistencia a antimicrobianos de importancia clínica en aislados de *E. coli* de pacientes con ITU en el Perú.

Palabras clave: *Escherichia coli*; Farmacorresistencia Bacteriana; Resistencia betalactámica; Enfermedades Urológicas; Perú (fuente: DeCS BIREME).

Se realizó un estudio descriptivo con aislados bacterianos de ocho hospitales públicos en Cusco, Huancavelica, La Libertad, Loreto, Madre de Dios, Puno, San Martín y Tumbes. Se recolectaron 70 aislados de *Escherichia coli* de pacientes ambulatorios con diagnóstico de ITU durante 2018. Estos aislados fueron caracterizados en el Laboratorio de Investigación en Biología Molecular de la Universidad Peruana Unión, donde se confirmaron las especies y se determinaron los perfiles de resistencia utilizando el sistema MicroScan® (AutoScan-4) y paneles

para gramnegativos, según el fabricante. Se evaluaron 15 antimicrobianos de distintas familias, incluyendo ampicilina, amoxicilina con ácido clavulánico, piperacilina con tazobactam, cefepime, tobramicina, gentamicina, ciprofloxacina y tigeciclina, entre otros. Además, se detectaron *E. coli* productoras de BLEE, siguiendo las recomendaciones del CLSI. La extracción de ADN se realizó con el kit innuPREP, y para la identificación de genes de resistencia como *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} y *bla*_{PER}, se empleó PCR convencional. La multidrogorresistencia se definió como la resistencia a al menos un antimicrobiano en tres o más clases, y la proporción de aislados resistentes fue estratificada según el sexo del paciente. El análisis estadístico, utilizando la prueba exacta de Fisher, se realizó con un nivel de confianza del 95%, y los datos fueron gestionados con Stata 16. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Peruana Unión y la Dirección Universitaria de Investigación de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Se obtuvieron 70 aislados de *Escherichia coli* de pacientes ambulatorios con diagnóstico de infección del tracto urinario, provenientes de hospitales públicos en Huancavelica (n=15), Loreto (n=14), Tumbes (n=13), Madre de Dios (n=12), La Libertad (n=8), Puno (n=4), Cusco (n=3) y San Martín (n=1). La media de edad de los pacientes fue de 38,8 años, y el 80% (n=56) fueron mujeres. El 65,7% de los aislados presentaron un fenotipo MDR, siendo más frecuente en hombres (78,6%) que en mujeres (62,5%). Además, el 55,7% de los aislados fueron identificados como productores de BLEE, con una mayor frecuencia en hombres (64,3%) que en mujeres (53,6%), aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

De los aislados productores de BLEE, el 92,3% presentaron un fenotipo MDR, mostrando resistencia a aminoglucósidos, fluoroquinolonas, betalactámicos y sulfonamidas. Los porcentajes de resistencia fueron elevados para ampicilina (77,1%), ciprofloxacina (74,3%), trimetoprim/sulfametoxazol (62,9%), cefepime (57,1%) y cefuroxima (57,1%), con mayores niveles en los aislados de hombres. Solo los aislados de mujeres presentaron resistencia a ceftazidima (10,7%), aztreonam (3,6%), cefotaxima (3,6%) y tigeciclina (1,8%), aunque estas diferencias tampoco fueron estadísticamente significativas. No se detectó resistencia a amikacina, ertapenem, imipenem ni meropenem.

El análisis molecular reveló la presencia del gen *bla*_{TEM} en un 31,4% de los aislados, seguido por *bla*_{CTX-M} (18,6%) y *bla*_{SHV} (2,9%), tanto en productores como en no productores de BLEE. De los aislados productores de BLEE, el 56,4% fue positivo para al menos uno de estos genes, siendo *bla*_{CTX-M} el más común (28,2%), y solo un aislado presentó *bla*_{CTX-M} junto con *bla*_{SHV}. El 25,6% de los aislados productores de BLEE contenían el gen *bla*_{TEM}. En los aislados no productores de BLEE, el 54,8% no presentó ninguno de los genes evaluados, aunque el 38% presentó *bla*_{TEM} y el 6,5% *bla*_{CTX-M}. No se detectó la presencia del gen *bla*_{PER} en ninguno de los aislados.

Artículo #3: Características moleculares de aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* resistentes a antibióticos obtenidos de muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario en Lima y Callao, Perú

Fajardo-Loyola, A., Yareta-Yareta, J., Meza-Fernandez, H., Soto-Pastrana, J., & Marcos-Carbajal, P. (2023). Características moleculares de aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* resistentes a antibióticos obtenidos de muestras de orina de pacientes con infección del trato urinario en Lima y Callao, Perú. *Revista de la Facultad de Medicina*, 71(3), e104282-e104282.

<https://doi.org/10.15446/revfacmed.v71n3.104282>.



Revista de la Facultad de Medicina

ORIGINAL RESEARCH

Molecular characteristics of antibiotic-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates obtained from urine samples of patients with urinary tract infection in Lima and Callao, Peru

Características moleculares de aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* resistentes a antibióticos obtenidos de muestras de orina de pacientes con infección del trato urinario en Lima y Callao, Perú

Alexander Fajardo-Loyola¹  José Yareta-Yareta²  Henry Meza-Fernández³  Javier Soto-Pastrana⁴ 
Pool Marcos-Carbajal^{2,5} 

¹ Universidad Nacional Federico Villarreal - Faculty of Natural Sciences and Mathematics - Professional School of Biology - Lima - Peru.
² Universidad Peruana Unión - Faculty of Health Sciences - Professional School of Human Medicine - Molecular Biology Research Laboratory - Ñaña - Peru.

³ Hospital Alberto Sabogal Solinguren - Department of Clinical Pathology - Microbiology Service - Bellavista, Callao - Peru.

⁴ Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé - Department of Clinical Pathology - Microbiology Area - Lima - Peru.

⁵ Universidad de San Martín de Porres - Faculty of Human Medicine - Center for Research in Traditional Medicine and Pharmacology - Santa Anita - Peru.

Abstract

Introduction: Urinary tract infections (UTI) are the second most frequent disease caused by bacteria, mainly *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. Furthermore, the emergence of multidrug-resistant extended-spectrum β -lactamases (ESBL)-producing bacteria is a serious public health issue.

Objective: To describe the molecular characteristics of ESBL-producing *E. coli* and *K. pneumoniae* isolates obtained from urinary samples of Peruvian patients with UTI.

Materials and methods: Retrospective, descriptive, cross-sectional study, in which 118 isolates obtained from urine cultures of patients with UTI treated at 2 hospitals located in the province of Lima and 1 in the province of Callao between April and August, 2019, were analyzed. A MicroScan™ automated system and a conventional polymerase chain reaction (PCR) test were used to identify resistance profiles and detect ESBL genes, respectively.

Results: All the bacteria isolated in the 3 hospitals were multi-drug resistant (105 *E. coli* and 13 *K. pneumoniae*). Coexistence of ESBL genes (*bla_{TEM}*, *bla_{CTX-M}*, *bla_{SHV}*) was observed in 32.20% of the isolates (28.57% of *E. coli* and 61.53% of *K. pneumoniae* isolates). Coexistence of 2 and 3 genes was found in 12.71% and 21.18% of isolates, respectively. In addition, *bla_{TEM}* was the ESBL gene most frequently expressed in the isolates (45.76%).

Conclusions: Multiple drug resistance was found in all isolates analyzed. Additionally, coexistence of ESBL genes was observed in almost one third of the isolates, showing that antibiotic resistance is a real problem in public hospitals in the provinces of Lima and Callao.



Open access

Received: 16/08/2022

Accepted: 13/06/2023

Corresponding author: Pool Marcos-Carbajal, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Medicina Humana, Universidad Peruana Unión, Ñaña, Peru. Email: poolmarcos@upeu.edu.pe

Keywords: *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae*; Drug Resistance, Bacterial; Beta-Lactam Resistance; Genes; Perú (MeSH).

Palabras clave: *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae*; Farmacorresistencia Bacteriana; Resistencia betalactámica; Genes; Perú (DeCS).

How to cite: Fajardo-Loyola A, Yareta-Yareta J, Meza-Fernández H, Soto-Pastrana J, Marcos-Carbajal P. (2023). Características moleculares de aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* resistentes a antibióticos obtenidos de muestras de orina de pacientes con infección del trato urinario en Lima y Callao, Perú. *Revista de la Facultad de Medicina*, 71(3), e104282-e104282.

Se realizó un estudio retrospectivo, transversal y descriptivo en el Laboratorio de Investigación en Biología Molecular de la Universidad Peruana Unión, donde se analizaron 118 aislados de *E. coli* y *K. pneumoniae* provenientes de muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario, recolectadas entre abril y agosto de 2019 en dos hospitales de ESSALUD y uno del Ministerio de Salud (MINSA) de Perú. Se obtuvieron 40 aislados del Hospital de Huaycán, 44 del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, y 34 del Hospital Nacional Alberto Sabogal Sologuren, todos ubicados en Lima y Callao. Para la identificación bacteriana y evaluación de susceptibilidad antimicrobiana, se utilizaron los paneles MicroScan para bacterias gramnegativas, siguiendo las instrucciones del fabricante. Se emplearon 16 antimicrobianos por aislado y se calcularon las concentraciones mínimas inhibitorias, utilizando los puntos de corte del CLSI de 2020. Un aislado fue considerado multirresistente si presentaba resistencia a antimicrobianos de tres o más familias. La identificación fenotípica BLEE se realizó mediante la lectura de los paneles con el software LabPro Command Center.

La extracción de ADN genómico bacteriano se llevó a cabo con el kit innuPREP, siguiendo el protocolo del fabricante. Posteriormente, se realizó una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para detectar los genes de resistencia a betalactámicos (*bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}), utilizando un termociclador T100 bajo condiciones específicas de amplificación. Los productos de la PCR se visualizaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 1.5%, empleando el sistema runSTATION y un marcador de peso molecular de 100 pb.

Los datos obtenidos de los aislados fueron ingresados en una base de datos y analizados con el software R, utilizando estadísticas descriptivas. El estudio fue

aprobado por el Comité de Investigación y Ética de la Universidad Peruana Unión, y siguió los principios éticos de la Declaración de Helsinki, garantizando la confidencialidad de los datos de los participantes. No se requirió consentimiento informado, ya que solo se analizaron aislados bacterianos.

De los 118 aislados analizados, 105 fueron identificados como *Escherichia coli* y 13 como *Klebsiella pneumoniae*. Según el hospital de origen, el Hospital de Huaycán (nivel II-1) identificó 36 aislados de *E. coli* y 4 de *K. pneumoniae*; el Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé (nivel III-1) encontró 40 de *E. coli* y 4 de *K. pneumoniae*; y el Hospital Nacional Alberto Sabogal Sologuren (nivel IV-4) detectó 29 de *E. coli* y 5 de *K. pneumoniae*. Todos los aislados fueron multirresistentes, mostrando resistencia mayoritaria a antimicrobianos como aztreonam (75.42%), ceftazidima (72.03%), ciprofloxacina (72.08%), cefotaxima (61.01%) y cefepime (50.84%), entre otros. Además, se observó baja resistencia a amikacina (3.38%), ertapenem (0.84%), imipenem (10.16%) y meropenem (0.84%).

El estudio reveló que 102 de los 105 aislados de *E. coli* y los 13 de *K. pneumoniae* expresaron al menos un gen de betalactamasas de espectro extendido (ESBL), siendo *bla_{TEM}* el más frecuente (45.76%), seguido de *bla_{CTX-M}* (34.74%) y *bla_{SHV}* (28.81%). En *E. coli*, el gen *bla_{CTX-M}* fue el más prevalente en el Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé (nivel III-1) con 65%, mientras que *bla_{TEM}* fue más común en el Hospital de Huaycán (nivel II-1) con 50% y en el Hospital Nacional Alberto Sabogal Sologuren (nivel IV-4) con 31.30%. En los aislados de *K. pneumoniae*, los genes *bla_{CTX-M}* y *bla_{SHV}* fueron los más prevalentes en el Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé (nivel III-1) con 100%

cada uno, mientras que *bla_{SHV}* fue el predominante en el Hospital de Huaycán (nivel II-1) y en el Hospital Nacional Alberto Sabogal Sologuren (nivel IV-4), ambos con 100%.

Se observó una alta frecuencia de coexistencia de genes BLEE, con un 28.57% en los aislados de *E. coli* y un 61.53% en los de *K. pneumoniae*. La coexpresión de tres genes se detectó en el 12.71% del total de aislados (9.52% de *E. coli* y 38.46% de *K. pneumoniae*), mientras que la coexpresión de dos genes se observó en el 21.18% (20.95% en *E. coli* y 23.07% en *K. pneumoniae*).

Respecto a la distribución por hospital, la coexistencia de genes BLEE en *E. coli* fue más frecuente en el Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé (nivel III-1) con 56.81%, destacando la coexistencia de tres genes (*bla_{CTX-M}*-*bla_{TEM}*-*bla_{SHV}*) en el 22.50% de los aislados. En el Hospital Nacional Alberto Sabogal Sologuren (nivel IV-4), la coexistencia de dos genes (*bla_{CTX-M}*-*bla_{TEM}*) se encontró en el 17.20% de los aislados. En *K. pneumoniae*, la mayor coexistencia de genes se dio en el Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé (nivel III-1), donde el 100% de los aislados mostraron coexpresión, siendo tres genes en el 75% de los casos.

Artículo #4: Diversidad Genómica de *Escherichia coli* uropatógena en aislados clínicos de seis países de latinoamérica, 2018-2023 (enviado a publicación en septiembre 2024)

Francesca Caballero^{1a} ; Anne Martinez-Ventura^{1,2b} ; Diego Cuicapuza^{1,3b} ; Alex Fajardo-Loyola^{4a} ; Rosmery Gutierrez-Alajcrista^{5c} ; Javier Soto-Pastrana^{6b} ; Percy Asmat-Marrufo^{7a} ; Evelyn Barco-Yaipen de Vera^{8a} ; Henry Meza-Fernandez^{9b} ; Mario Chambi-Quispe^{10a} ; Jimena Pino-Dueñas^{11a} ; Nicomedes Laura-Rivas^{12d} ; Alexander Briones-Alejo¹³ ; Pilar Diaz-Rengifo^{14d} ; Carlos Peralta-Siesquen^{15a} ; Guillermo Salvatierra^{1e} ; Pablo Tsukayama^{1,16f} ; **Pool Marcos-Carbajal^{1,17g}**

En este estudio se caracterizaron cepas de UPEC recolectadas previamente de pacientes con ITU en hospitales de Perú durante los años 2018-2019 (artículo 2 y artículo 3). El ADN total se extrajo de cultivos líquidos y se purificó utilizando el kit Thermo GeneJet Genomic DNA Purification Kit. De los aislados originales, se seleccionaron 48 para secuenciación a partir de un muestreo estratificado según los perfiles de resistencia y el sitio de origen. Las librerías genómicas se prepararon con el kit NexteraXT y fueron secuenciadas en un Illumina MiSeq en la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH). Las secuencias crudas fueron sometidas a control de calidad con FastQC y procesadas con fastp para eliminar adaptadores y secuencias de baja calidad. Los "reads" procesados se ensamblaron de novo utilizando SPAdes, y la calidad de los genomas ensamblados se evaluó con QUAST.

Para complementar el análisis, se descargaron 325 genomas públicos de UPEC de la base de datos NCBI Isolates Browser, seleccionando aquellos que provenían

de muestras clínicas de orina de *Homo sapiens* en países de Latinoamérica entre 2016 y 2024. Posteriormente, se confirmó que estos genomas correspondían al tipo UPEC al verificar la presencia de tres o más factores de virulencia (*chuA*, *vat*, *fyuA*, *yfcV*). Tras aplicar filtros de calidad, se seleccionaron 127 genomas públicos, los cuales fueron sumados a 16 genomas de UPEC generados en este estudio, resultando en un total de 143 genomas para análisis.

La identificación del serotipo de los aislados se realizó con ABRicate y la base de datos EcOH. Los secuenciotipos (ST) se determinaron utilizando el esquema de siete genes marcadores con el programa MLST. Los genes de resistencia antimicrobiana y mutaciones se identificaron con AMRFinderPlus, mientras que los genes de virulencia fueron detectados con VirulenceFinder. El filogruppo fue identificado con EzClermont. Todos los análisis aplicaron un umbral del 90% para cobertura e identidad. Los genomas ensamblados fueron anotados con Bakta, y el alineamiento del "core genome" se realizó con Panaroo. Se determinó el mejor modelo filogenético utilizando ModelTest-NG y se construyó un árbol filogenético con el modelo GTR+I+G4, realizando 100 réplicas de bootstrap con RAxML-NG. El árbol fue enraizado con un genoma de *Escherichia fergusonii* y visualizado con iTOL.

Se analizaron 143 aislados de UPEC provenientes de seis países de Latinoamérica, con Paraguay (39.2%) y Brasil (32.9%) como los países con mayor representación. La distribución temporal abarcó principalmente los años 2021 (30.1%) y 2022 (44.1%). Los secuenciotipos más comunes fueron ST131 (42.7%) y ST1193 (13.3%), destacándose variaciones regionales como en Perú, donde prevalecieron ST131 y ST1193, y en Brasil, donde también se observó ST648. El

serotipo O25:H4 (43.4%) fue el más frecuente, y el filogrupo Clermont B2 predominó en un 83.2%.

En cuanto a los genes de resistencia antimicrobiana, las betalactamasas más comunes fueron *bla*_{TEM-1} (40.0%) y *bla*_{CTX-M-15} (32.2%). Los genes de resistencia a aminoglucósidos más frecuentes fueron *aph*(6)-Id (35.0%) y *aph*(3'')-Ib (33.6%), mientras que el gen de bombas de eflujo *emrD* estuvo presente en todos los aislados. Además, se identificaron genes como *mphA* (43.4%) para resistencia a macrólidos, *sul1* (45.5%) para sulfonamidas y *tetA* (39.9%) para tetraciclina.

Se encontraron mutaciones no sinónimas relacionadas con resistencia en el 69.9% de los aislados, especialmente en los genes *gyrA* y *parC*, asociados a fluoroquinolonas, y *pmrB*, relacionado con colistina. Otros genes, como *glpT* y *uhpT*, presentaron mutaciones vinculadas a la resistencia a fosfomicina. En particular, el gen *marR* (Ser-3), asociado a multirresistencia, apareció en el 24.5% de los aislados. Se identificaron patrones de coincidencia entre secuenciotipo, serotipo y mutaciones, siendo el más frecuente ST131 con el serotipo O25:H4 y mutaciones en *gyrA* y *parC*.

El análisis filogenético reveló dos clados principales, F y G/B2, con clones como ST131 y ST1193 restringidos al filogrupo B2, mientras que ST648 se asoció al filogrupo F. Asimismo, los serotipos O25:H4 y O75:H5 se limitaron al filogrupo B2, mientras que O1:H6 se restringió al F. Los aislados de ST1193 presentaron consistentemente mutaciones simultáneas en los genes *gyrA* y *parC*.

IV. DISCUSIONES

En el primer artículo (2020) “**Comparación de los perfiles de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* uropatógena e incidencia de la producción de betalactamasas de espectro extendido en tres establecimientos privados de salud de Perú**”, este estudio descriptivo preliminar revela una alta tasa de multiresistencia en establecimientos de salud privados de la costa, sierra y selva de Perú, destacando la presencia de cepas de *E. coli* productoras de BLEE en pacientes ambulatorios con una tasa del 28,6%, menor a estudios previos que solo consideraron la costa. Estudios anteriores (54), han mostrado un aumento de estos microorganismos con el 31,4% en infecciones comunitarias y 24,9% en hospitalarias. Investigaciones confirmaron una alta prevalencia de genes como *bla*_{TEM} en la zona costera (48) donde identificaron genes CTX-M en ambientes hospitalarios. Otros estudios en diversas zonas han encontrado prevalencias de BLEE en muestras tanto pediátricas como adultas, asociadas a factores como hospitalización y uso de pañales en pediatría, o vejiga neurogénica en adultos.

En cuanto a la resistencia a antibióticos, las tasas de resistencia a aminoglucósidos fueron bajas, menores al 15%, destacándose la amikacina con solo un 2% de resistencia en la región Puno. Esto sugiere que la gentamicina y la amikacina podrían ser opciones de tratamiento de primera línea. Asimismo, la nitrofurantoína mostró baja resistencia, y la fosfomicina podría ser una alternativa eficaz contra cepas multiresistentes debido a su sensibilidad superior al 70%.

A pesar de la limitación del reducido número de muestras, los resultados son relevantes al mostrar variaciones en los perfiles de resistencia según la región geográfica y disponibilidad de medicamentos. El estudio resalta la importancia de

monitorear estos perfiles en distintas áreas para mejorar el tratamiento empírico de infecciones urinarias. En conclusión, los hallazgos alertan sobre la necesidad de evaluar la incidencia real a nivel nacional, implementar medidas de control de cepas multirresistentes y realizar estudios adicionales sobre los factores de riesgo en pacientes ambulatorios para desarrollar políticas preventivas.

En el siguiente artículo (2021) **“Caracterización microbiológica y molecular de la resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* uropatógenas de hospitales públicos peruanos”** los aislados de *E. coli* de pacientes con ITU de hospitales MINSA de provincias fuera de Lima, mostraron altos niveles de resistencia a antimicrobianos de importancia clínica, con más del 50% clasificados como MDR y productores de BLEE. Las resistencias más comunes fueron contra ampicilina, ciprofloxacina y trimetoprim/sulfametoxazol, frecuentemente utilizados en el tratamiento de ITU. También se detectaron aislados resistentes a colistina, un fármaco de último recurso en infecciones complicadas, mientras que no hubo resistencia a imipenem, meropenem ni ertapenem. Sin embargo, la presencia de cepas productoras de BLEE implica un riesgo potencial de aumentar la resistencia, debido a la capacidad de transmitir genes de resistencia.

Los aislados de pacientes masculinos presentaron mayores niveles de resistencia a varios antimicrobianos, aunque las diferencias según el sexo no fueron significativas, por lo que no se puede considerar un indicador para la selección empírica de antibióticos. Se resalta la necesidad de mayor cautela en la elección de tratamientos para evitar la emergencia de cepas MDR.

En cuanto a los genes de resistencia, la familia *bla*_{TEM} fue la más común, seguida por *bla*_{CTX-M} y *bla*_{SHV}, aunque estos resultados contrastan con otros estudios que encontraron a *bla*_{CTX-M} como el más frecuente en Perú. Algunos aislados productores de BLEE fueron negativos para los genes evaluados, lo que refleja la baja sensibilidad de los métodos fenotípicos y la necesidad de utilizar técnicas moleculares como la PCR, que son más específicas y sensibles. No obstante, la detección de estos genes depende de la calidad del diseño de los cebadores y la variabilidad de los genes *bla*_{TEM} o *bla*_{SHV} no BLEE.

Los aislados de *E. coli* de pacientes con ITU presentaron altos niveles de resistencia a antimicrobianos clínicamente importantes. Más del 50% de los aislados fueron clasificados como MDR y productores de BLEE, con resistencias más frecuentes frente a ampicilina, ciprofloxacina y trimetoprim/sulfametoxazol, fármacos comúnmente utilizados en ITU (49). También se encontraron aislados resistentes a colistina, un antibiótico de último recurso para infecciones complicadas causadas por bacterias MDR (50). No se detectó resistencia a imipenem, meropenem o ertapenem, aunque la presencia de cepas productoras de BLEE representa un riesgo potencial de desarrollo de resistencias adicionales debido a su capacidad de transportar genes de resistencia (51).

Los pacientes masculinos mostraron mayores niveles de resistencia a varios antimicrobianos, aunque las diferencias según el sexo no fueron estadísticamente significativas. No obstante, se destaca la alta prevalencia de *E. coli* resistente a antimicrobianos de uso frecuente en ITU, lo que indica la necesidad de mayor precaución en la selección de tratamientos para evitar una mayor presión selectiva y el surgimiento de cepas MDR.

En cuanto a los genes de resistencia, la familia *bla*_{TEM} fue la más frecuente, seguida por *bla*_{CTX-M} y *bla*_{SHV}. Esto difiere de otros estudios que hallaron *bla*_{CTX-M} como el más común en ITU en Perú (52,53). Además, se identificaron 17 aislados productores de BLEE que fueron negativos para los genes evaluados, lo que refleja las limitaciones de los métodos fenotípicos y su baja sensibilidad. En comparación, la PCR ofrece mejores niveles de especificidad y sensibilidad, aunque depende de la calidad del diseño de cebadores. Variantes de los genes *bla*_{TEM} o *bla*_{SHV} no BLEE han sido descritas, lo que resalta la importancia de los métodos de secuenciación para su identificación y caracterización (54).

En este tercer artículo (2021): **“Características moleculares de aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* resistentes a antibióticos obtenidos de muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario en Lima y Callao, Perú”** involucró hospitales MINSA y EsSALUD de Lima y Callao respectivamente y se encontró que todos los aislados eran multirresistentes a los antibióticos. Las tasas de resistencia a varios antibióticos fueron altas, como aztreonam (75.42%), ceftazidima (72.03%), ciprofloxacina (72.08%), ampicilina/sulbactam (71.18%), cefotaxima (61.01%), tobramicina (54.23%), cefepime (50.84%), nitrofurantoína (46.61%), gentamicina (46.61%) y trimetoprima/sulfametoxazol (44.91%). Estos valores son superiores a los reportados por (55), quienes hallaron tasas de resistencia más bajas en aislados de *E. coli* en México. Además, (56) reportaron tasas de resistencia significativamente menores a aztreonam, ceftazidima, cefotaxima y cefepime entre 2008 y 2010 en aislados de mujeres mexicanas con ITU.

Se determinó que el gen *bla*_{TEM} fue el más frecuente (45.76%), seguido por *bla*_{CTX-M} (34.74%) y *bla*_{SHV} (28.81%), lo que contrasta con lo reportado por (59), quienes encontraron una mayor prevalencia del gen *bla*_{CTX-M} (79.20%) en aislados de *E. coli* en Lima en 2012 . De manera similar, (57) también encontraron una mayor prevalencia del gen *bla*_{CTX-M} en pacientes con ITU adquirida en la comunidad entre 2014 y 2016 , lo que difiere de los hallazgos actuales. Además, (58) observaron que el gen *bla*_{CTX-M} fue el más frecuente en aislados de adultos mayores en Lima .

Además, se observó la coexistencia de los tres genes *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M} y *bla*_{SHV} en 12.71% de los aislados, cifra superior a lo reportado por (59) quienes encontraron dicha coexistencia en 4.9% de los aislados en la selva peruana entre 2017 y 2018 . La coexistencia de dos genes fue registrada en 21.18% de los aislados, similar a lo descrito por (59) en su estudio .

Finalmente, el estudio tiene la fortaleza de emplear técnicas de biología molecular más precisas que los estudios fenotípicos, lo que permite obtener datos más exactos sobre la resistencia a los antibióticos en pacientes con ITU tratados en hospitales de Lima y Callao. Sin embargo, una limitación fue la imposibilidad de incluir más hospitales debido a barreras administrativas, por lo que se recomienda realizar estudios adicionales para confirmar estos resultados.

En el cuarto estudio (2025, en revision por pares): **“Diversidad Genómica de *Escherichia coli* uropatógena en aislados clínicos de seis países de latinoamérica, 2018-2023”** se usaron los 48 aislados bacterianos descritos en el artículo 2 y 3 seleccionados en forma aleatoria, por MDR y estratificado de diverso lugares del Perú. Se destaca que el clon ST131, conocido por ser pandémico y multirresistente, fue identificado en el 42.7% de los genomas UPEC analizados, mientras que en estudios previos, como el realizado en Arabia Saudita, la prevalencia fue mayor (61.7%) (60). Este clon es responsable de infecciones complicadas, como ITUs y bacteremias, y su alta virulencia y resistencia a múltiples antibióticos lo convierten en un desafío clínico (61). Asimismo, el clon emergente ST1193 también ha mostrado un comportamiento pandémico y multirresistente, encontrándose en un 13.3% de los aislados en la región y en un 37.5% de los casos en Perú.

El filogrupo B2, que comprende el 83.2% de los aislados de este estudio, es conocido por su alta virulencia, como lo demuestran investigaciones previas en Irak y Arabia Saudita, donde se reportaron tasas significativas de ST131 dentro de este grupo (62). Además, el linaje O25-B2-ST131, hipervirulento y productor de BLEE, refuerza la necesidad de adoptar medidas de control para evitar su diseminación (63). La ausencia de filogrupos F y G en estudios previos en Perú también se discutió, lo que contrasta con los hallazgos en otras regiones (64).

En cuanto a las betalactamasas, los genes *bla*_{CTX-M-15} y *bla*_{CTX-M-27} fueron los más prevalentes en este estudio, lo que difiere de un análisis anterior en Perú que encontró mayor frecuencia de *bla*_{CTX-M-1} y *bla*_{CTX-M-9} (65). Estos datos subrayan la

importancia de identificar alelos específicos de betalactamasas para comprender mejor su distribución y su impacto en la resistencia antimicrobiana.

Los genes relacionados con bombas de eflujo, como *emrD* y *acrF*, fueron identificados en casi todos los genomas analizados, lo que concuerda con estudios similares realizados en Irak (66). Además, la resistencia a tetraciclinas estuvo asociada al gen *tetA* y la resistencia a sulfonamidas al gen *sul1*, aunque otros estudios en Irán encontraron diferentes prevalencias de estos genes, lo que podría deberse a factores geográficos o metodológicos (67).

Las mutaciones puntuales en los genes *gyrA* y *parC* también juegan un papel crucial en la resistencia a fluoroquinolonas, con una alta frecuencia de mutaciones dobles en este estudio (67.8%), similar a los reportes de resistencia observados en estudios de Estados Unidos (68). La prevalencia de estas mutaciones podría estar vinculada al uso no regulado de antibióticos en la región.

Por otro lado, se discuten las mutaciones en el gen *pmrB*, que afectan la respuesta al estrés en enterobacterias y contribuyen a la resistencia a colistina, incluso en cepas negativas para *mcr*. Aunque la colistina no es un tratamiento estándar para ITU, el aumento en la detección de cepas resistentes en la última década preocupa a los especialistas (ref).

Finalmente, se señalan las limitaciones del estudio, como el reducido número de genomas analizados y la falta de representatividad de todas las regiones de Latinoamérica. A pesar de ello, se resalta la fortaleza del uso de herramientas moleculares y bioinformáticas, las cuales proporcionan una base sólida para futuras investigaciones sobre la resistencia antimicrobiana en UPEC.

V. CONCLUSIONES

En cuanto al primer artículo (2020): se evidenció una significativa variabilidad en los perfiles de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* uropatógena en tres ciudades peruanas (Lima, Juliaca e Iquitos) revelando que el 54% de los aislados eran multirresistentes, con un notable 28.6% de producción de BLEE en la región de Puno, también, se observó un mayor número de casos en el rango de edad de 31 a 45 años con resistencia a ceftazidima, ceftriaxona, gentamicina y trimetoprim-sulfametoxazol en el establecimiento de salud de la región Puno.

En el segundo artículo (2021): Se evaluaron 70 aislados de *E. coli* en ocho hospitales públicos, encontrando que el 65.7% eran multirresistentes y el 55.7% producían BLEE. Se detectaron altos niveles de resistencia para ampicilina (77,1%), ciprofloxacina (74,3%), trimetoprim/sulfametoxazol (62,9%), cefepime (57,1%) y cefuroxima (57,1%). El gen *bla*_{TEM} fue el más frecuente con un 31,4%, seguido por *bla*_{CTX-M} (18,6%) y *bla*_{SHV} (2,9%).

En el tercer artículo (2021): Un análisis retrospectivo de 118 muestras en hospitales de Lima y Callao mostró que el 100% de los aislamientos eran MDR, con un 32.2% produciendo BLEE. La coexistencia de genes BLEE (*bla*_{tem}, *bla*_{ctx-m}, *bla*_{shv}) se observó en 32.20% de los aislamientos (28.57% de los de *E. coli* y 61.53% de los de *K. pneumoniae*), hallándose coexistencia de 2 genes y 3 genes en 12.71% y 21.18%, respectivamente; además, *blat*_{em} fue el gen BLEE más frecuentemente expresado en los aislamientos (45.76%).

Cuarto estudio (2025): Se caracterizaron genéticamente aislados de UPEC en Perú, encontrando predominancia del clon ST131 y 1193 del filogrupo B2. Se identificaron genes de resistencia y mutaciones asociadas a múltiples fármacos, evidenciando la alta frecuencia de clones de alto riesgo en la región.

En conclusión, estos estudios destacan la alarmante resistencia antimicrobiana en Perú, subrayando la necesidad urgente de implementar estrategias de control y prevención en salud pública.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Foxman B. The epidemiology of urinary tract infection. *Nat Rev Urol.* diciembre de 2010;7(12):653-60.
2. Agarwal J, Srivastava S, Singh M. Pathogenomics of uropathogenic *Escherichia coli*. *Indian J Med Microbiol.* junio de 2012;30(2):141-9.
3. Pitout JDD. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: an update on antimicrobial resistance, laboratory diagnosis and treatment. *Expert Rev Anti Infect Ther.* octubre de 2012;10(10):1165-76.
4. Marcos-Carbajal P, Salvatierra G, Yareta J, Pino J, Vásque N, Diaz P, et al. Caracterización microbiológica y molecular de la resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* uropatógenas de hospitales públicos peruanos. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2021;38(1):119–23.
5. Madrid SA La, Fukuda FF, Meritens AB De, Menchola JV. Sensibilidad antibiótica de los gérmenes causantes de infecciones urinarias en pacientes ambulatorios en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza. *Rev Soc Per Med Inter.* 2004;17(1):5–8.
6. Calderón E R, Sacsquispe C R, G. Pasterán F, F. Galas M, Soto P J, Riveros Q J, et al. Caracterización molecular de *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter cloacae* productoras de β -lactamasas de espectro extendido tipo SHV-5 en una

unidad de cuidados intensivos neonatal de Lima. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica. julio de 2003;20(3):121-7.

7. Arce Z, Nuñez JL, Clavo RF, Valverde DF. Detección del gen CTX-M en cepas de *Escherichia coli* productoras de B-lactamasas de espectro extendido procedentes del Hospital Regional de Lambayeque; Chiclayo-Perú: Noviembre 2012-Julio 2013. Revista del Cuerpo Médico Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo. 2013;6(4):12-5.

8. Yong Chong, Shinji Shimoda NS. Current epidemiology, genetic evolution and clinical impact of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*, Infection. Genet Evol. 2018;61:185–8.

9. Eduardo SD-GL, Eduardo SMO, Fernando GNJ. Características y factores de riesgo de la infección de vías urinarias con cultivo positivo para betalactamasas de espectro extendido en adultos atendidos en urgencias en el Hospital Militar Central. Infect. 2021;22(3):147–52.

10. Chung The H, Karkey A, Pham Thanh D, Boinett CJ, Cain AK, Ellington M, Baker KS, Dongol S, Thompson C, Harris SR, Jombart T, Le Thi Phuong T, Tran Do Hoang N, Ha Thanh T, Shretha S, Joshi S, Basnyat B, Thwaites G, Thomson NR, Rabaa MA, Baker S. A high-resolution genomic analysis of multidrug-resistant hospital outbreaks of *Klebsiella pneumoniae*. EMBO Mol Med. 2015 Mar;7(3):227-39

11. Gutiérrez, C., Labarca, J., Román, J. C., Sanhueza, F., Moraga, M., Wozniak, A., & García, P. Vigilancia de enterobacterias productoras de carbapenemasas en cultivos rectales en un hospital universitario de Santiago, Chile. *Revista chilena de infectología*, 2013. 30(1), 103-106.
12. Reguero MT, Mantilla JR, Silva EMV de, Falquet L, González EB, Flores V, et al. Análisis genómico del resistoma de la cepa de *Acinetobacter baumannii* ABIBUN 107m multi-resistente y persistente en hospitales colombianos. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 1 de julio de 2014;16(2):104-13.
13. Avasthi, T. S., Kumar, N., Baddam, R., Hussain, A., Nandanwar, N., Jadhav, S., & Ahmed, N. (2011). Genome of multidrug-resistant uropathogenic *Escherichia coli* strain NA114 from India.
14. Paniagua-Contreras, G. L., Monroy-Pérez, E., Díaz-Velásquez, C. E., Uribe-García, A., Labastida, A., Peñaloza-Figueroa, F., ... & Vaca, S. (2019). Whole-genome sequence analysis of multidrug-resistant uropathogenic strains of *Escherichia coli* from Mexico. *Infection and Drug Resistance*, 12, 2363.
15. Snitkin, E. S., Zelazny, A. M., Thomas, P. J., Stock, F., NISC Comparative Sequencing Program, Henderson, D. K., ... & Segre, J. A. (2012). Tracking a hospital outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* with whole-genome sequencing. *Science translational medicine*, 4(148), 148ra116-148ra116.

16. Bisso-Andrade, A. (2018). Fundamentos básicos de la terapia antimicrobiana. Revista de la Sociedad Peruana de Medicina Interna, 31(1), 10-23.
17. La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos [Internet]. [citado 25 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
18. Carnota Lauzán, O. (2010). El costo en salud y la corresponsabilidad clínica desde un enfoque gerencial. Revista Cubana de Salud Pública, 36, 222-232.
19. Alós, J. I. (2015). Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica, 33(10), 692-699.
20. García C, Astocondor L, Banda C. Enterobacterias productoras de - lactamasas de espectro extendido: Situación en América Latina y en el Perú. Acta Médica Peruana. julio de 2012;29(3):163-9.
21. La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos [Internet]. [citado 25 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>

22. Magnitud y tendencias de la resistencia a los antimicrobianos en Latinoamérica. RELAVRA 2014, 2015, 2016. Informe resumido - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud [Internet]. [citado 25 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/documentos/magnitud-tendencias-resistencia-antimicrobianos-latinoamerica-relavra-2014-2015-2016>
23. Carbajal López, R. A. (2018). Características clínicas y epidemiológicas asociadas a infecciones del tracto urinario por uropatógenos BLEE, Hospital Regional de Loreto 2017-2018.
24. Spitia, J. D. C., Machado-Alba, J. E., Idarraga, S. G., Gutierrez, M. G., León, N. R., & Gallego, J. J. R. (2018). Etiología y perfil de resistencia antimicrobiana en pacientes con infección urinaria. *Infectio*, 23(1), 45-51.
25. Subhadra, B., Kim, D. H., Kim, J., Woo, K., Sohn, K. M., Kim, H. J., ... & Choi, C. H. (2018). Complete genome sequence of uropathogenic *Escherichia coli* isolate UPEC 26-1. *Genes & genomics*, 40(6), 643-655.
26. Flores-Mireles, A. L., Walker, J. N., Caparon, M., & Hultgren, S. J. (2015). Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol*, 13(5), 269-284.

27. Beghain, J., Bridier-Nahmias, A., Le Nagard, H., Denamur, E., & Clermont, O. (2018). ClermonTyping: an easy-to-use and accurate *in silico* method for *Escherichia* genus strain phylotyping. *Microbial genomics*, 4(7).
28. Colquechagua Aliaga F, Sevilla Andrade C, Gonzales Escalante E. Enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido en muestras fecales en el Instituto Nacional de Salud del Niño, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*. enero de 2015;32(1):26-32
29. Becerra G, Plascencia A, Lluévanos A, Domínguez M, Hernández I. Mecanismo de resistencia a antimicrobianos en bacterias. *Enf Microbiol*. [serie de Internet]. 2009 [cited 24 March 2020]; 29 (2). Disponible: <http://www.amimc.org.mx/revista/2009/29-2/mecanismo.Pdf>
30. Suárez Carlos José, Kattán Juan Nicolás, Guzmán Ana María, Villegas María Virginia. Mecanismos de resistencia a carbapenems en *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* y Enterobacteriaceae y estrategias para su prevención y control. *Infect*. [Internet]. 2006 June [cited 2022 May 25]; 10(2): 85-93. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922006000200006&lng=en.
31. Errecalde J. Uso de antimicrobianos en animales de consumo. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación; 2004.

[cited 24 March 2020]. Available from:
<http://www.fao.org/3/y5468s/y5468s00.htm>

32. Di Conza JA, Power P, Gutkind GO. Intercambio de mecanismos de resistencia entre bacterias gram negativas. diciembre de 2013 [citado 25 de mayo de 2022]; Disponible en: <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/1729>

33. Coque TM, Baquero F, Canton R. Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. Euro Surveill. 20 de noviembre de 2008;13(47):19044.

34. Cires Pujol Miriam. La resistencia a los antimicrobianos, un problema mundial. Rev Cubana Med Gen Integr [Internet]. 2002 Abr [citado 2022 Mayo 25] ; 18(2): 165-168. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252002000200012&lng=es.

35. Prestinaci, F., Pezzotti, P., & Pantosti, A. Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. Pathogens and global health, 2015. 109(7), 309-318.

36. Allcock, S., Young, E. H., Holmes, M., Gurdasani, D., Dougan, G., Sandhu, M. S., ... & Török, M. E. Antimicrobial resistance in human populations: challenges and opportunities. Global health, epidemiology and genomics, 2017 2.

37. Zapata DA. *E. coli* BLEE , la enterobacteria que ha atravesado barreras. *Rev Invest Med Sur Mex.* 2015;22(2):57–63.
38. Dubowitz V. Chaos in classification of the spinal muscular atrophies of childhood. *Neuromuscul Disord.* 1991;1(2):77-80.
39. León-Luna D, Fajardo-Loyola A, Yareta-Yareta J, Burgos-Espejo A, Peralta-Siesquen C, Galarza-Pérez M, et al. Caracterización molecular de enterobacterias multirresistentes en dos departamentos de la selva peruana. *Biomédica.* 2021;41(2):180–7
40. Santamaría-Veliz, O., Aguilar-Gamboa, F. R., Serquén-López, L. M., Silva-Díaz, H., Díaz-Maldonado, K. C., López-Ramírez, K. L., & Vergara-Espinoza, M. A. Clonalidad de cepas de *Escherichia coli* productoras de β -lactamasas de espectro extendido aisladas de pacientes con infección urinaria de la comunidad y portadores asin-tomáticos de un hospital nivel III de Chiclayo, Perú.
41. Loyola, S., Concha-Velasco, F., Pino-Dueñas, J., Vasquez-Luna, N., Juarez, P., Llanos, C., ... & Lescano, A. G. (2021). Antimicrobial resistance patterns and dynamics of extended-spectrum β -lactamase-producing uropathogenic *Escherichia coli* in cusco, peru. *Antibiotics*, 10(5), 485.
42. Palma, N., Pons, M. J., Gomes, C., Mateu, J., Riveros, M., García, W., ... & Ruiz, J. (2017). Resistance to quinolones, cephalosporins and macrolides in

Escherichia coli causing bacteraemia in Peruvian children. Journal of global antimicrobial resistance, 11, 28-33.

43. Guiral, E., Pons, M. J., Vubil, D., Marí-Almirall, M., Sigaúque, B., Soto, S. M., ... & Mandomando, I. (2018). Epidemiology and molecular characterization of multidrug-resistant *Escherichia coli* isolates harboring blaCTX-M group 1 extended-spectrum β -lactamases causing bacteremia and urinary tract infection in Manhica, Mozambique. Infection and drug resistance, 11, 927.

44. Alleweldt, F., Kara, Ş., Best, K., Aarestrup, F. M., Beer, M., Bestebroer, T. M., ... & Wylezich, C. (2021). Economic evaluation of whole genome sequencing for pathogen identification and surveillance—results of case studies in Europe and the Americas 2016 to 2019. Eurosurveillance, 26(9), 1900606.

45. Abd El Ghany, M., Sharaf, H., Al-Agamy, M. H., Shibl, A., Hill-Cawthorne, G. A., & Hong, P. Y. (2018). Genomic characterization of NDM-1 and 5, and OXA-181 carbapenemases in uropathogenic *Escherichia coli* isolates from Riyadh, Saudi Arabia. PloS one, 13(8), e0201613.

46. Sanz, M. B., Denise De Belder, J. M., Faccione, D., Poklepovich, T., Lucero, C., Rapoport, M., ... & Gomez, S. A. (2022). Carbapenemase-Producing Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* From Argentina: Clonal Diversity and Predominance of Hyperepidemic Clones CC10 and CC131. Frontiers in Microbiology, 13.

47. Villegas MV, Blanco MG, Sifuentes-Osornio J, Rossi F. Increasing prevalence of extended-spectrum-beta-lactamase among Gram-negative bacilli in Latin America: 2008 update from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). *Braz J Infect Dis.* 2011;15:34-9. <https://doi.org/10.1590/S1413-86702011000100007>
48. Rivera-Jacinto M, Rodríguez-Ulloa C, Flores-Clavo R, Serquén-López L, Arce-Gil Z. Beta-lactamasas de espectro extendido tipo TEM y CTX-M en *Klebsiella spp.* y *Escherichia coli* aisladas de superficies de ambientes hospitalarios. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública.* 2015;32:752-5.
49. Huang ES, Stafford RS. National patterns in the treatment of urinary tract infections in women by ambulatory care physicians. *Arch Intern Med.* 2002;162(1):41-7. doi: 10.1001/archinte.162.1.41
50. Cui P, Niu H, Shi W, Zhang S, Zhang H, Margolick J, et al. Disruption of Membrane by Colistin Kills Uropathogenic *Escherichia coli* Persisters and Enhances Killing of Other Antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60(11):6867-6871. doi: 10.1128/AAC.01481-16.
51. Carattoli A. Plasmids in Gram negatives: molecular typing of resistance plasmids. *Int J Med Microbiol.* 2011;301(8):654-8. doi: 10.1016/j.ijmm.2011.09.003.

52. Galván F, Agapito J, Bravo N, Lagos J, Tamariz J. Caracterización fenotípica y molecular de *Escherichia coli* productoras de β -Lactamasas de espectro extendido en pacientes ambulatorios de Lima, Perú. *Rev Medica Hered.* 2016;27:22. doi:10.20453/rmh.v27i1.2780.
53. Miranda J, Pinto J, Faustino M, Sánchez-Jacinto B, Ramirez F. Antimicrobial resistance of uropathogens in older adults in a private clinic in Lima, Peru. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2019;36(1):87-92. doi: 10.17843/rpmesp.2019.361.3765.
54. Pitout JD, Laupland KB. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis.* 2008;8(3):159-66. doi: 10.1016/S1473-3099(08)70041-0.
55. Miranda-Estrada LI, Ruíz-Rosas M, Molina-López J, Parra-Rojas I, González-Villalobos E, Castro-Alarcón N. Relación entre factores de virulencia, resistencia a antibióticos y los grupos filogenéticos de *Escherichia coli* uropatógena en dos localidades de México. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2017;35(7):426-33. <https://doi.org/kvtv>.
56. López-Banda DA, Carrillo-Casas EM, Leyva-Leyva M, Orozco-Hoyuela G, Manjarrez-Hernández ÁH, Arroyo-Escalante S, et al. Identification of virulence factors genes in *Escherichia coli* isolates from women with urinary tract infection in Mexico. *Biomed Res Int.* 2014;2014:959206. <https://doi.org/gb8455>.

57. Mirkalantari S, Masjedian F, Irajian G, Siddig EE, Fattahi A. Determination of the frequency of β -lactamase genes (*bla*_{SHV}, *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M}) and phylogenetic groups among ESBL-producing uropathogenic *Escherichia coli* isolated from outpatients. Journal of Laboratory Medicine. 2020;44(1):27-33. <https://doi.org/kvs7>.
58. Gonzales-Rodriguez AO, Infante-Varillas SF, Reyes-Farias CI, Ladines-Fajardo CE, Gonzales-Escalante E. Extended-spectrum β -lactamases and virulence factors in uropathogenic *Escherichia coli* in nursing homes in Lima, Peru. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2022;39(1):98-103. <https://doi.org/kvtw>.
59. León-Luna Diana, Fajardo-Loyola Alexander, Yareta-Yareta José, Burgos-Espejo Antonio, Peralta-Siesquen Carlos, Galarza-Pérez M, et al. Caracterización molecular de enterobacterias multirresistentes en dos departamentos de la selva peruana. Biomédica. 2021;41(Suppl 2):180-7. <https://doi.org/g9gw>.
60. Alqasim A, Abu Jaffal A, Alyousef AA. 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.

61. 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.
62. 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
63. 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.
64. Rodriguez 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.
65. 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.

66. 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.
67. 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. <https://doi.org/10.5812/jjm.112547>.
68. 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.

VII. ANEXOS

1. Marcos-Carbajal, P., Galarza-Pérez, M., Huancahuire-Vega, S., Otiniano-Trujillo, M., & Soto-Pastrana, J. (2020). Comparación de los perfiles de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* uropatógena e incidencia de la producción de betalactamasas de espectro extendido en tres establecimientos privados de salud de Perú. *Biomédica*, 40, 139-147.

doi: [10.7705/biomedica.4772](https://doi.org/10.7705/biomedica.4772)

Biomédica 2020;40(Supl.1):139-47
doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.4772>



Comunicación breve

Comparación de los perfiles de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* uropatógena e incidencia de la producción de betalactamasas de espectro extendido en tres establecimientos privados de salud de Perú

Pool Marcos-Carbajal¹, Marco Galarza-Pérez^{1,2}, Salomón Huancahuire-Vega¹, Miguel Otiniano-Trujillo¹, Javier Soto-Pastrana³

¹Laboratorio de Microbiología, Escuela Profesional de Medicina Humana, Universidad Peruana Unión, Lima, Perú

²Laboratorio de Referencia Nacional de Biotecnología y Biología Molecular, Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú

³Laboratorio de Microbiología, Hospital Nacional Docente "Madre Niño San Bartolomé", Lima, Perú

Introducción. La aparición de enterobacterias multirresistentes y productoras de betalactamasas de espectro extendido en pacientes ambulatorios con infecciones urinarias representa un problema de salud pública en Perú.

Objetivo. Comparar los perfiles de resistencia de *Escherichia coli* uropatógenas e identificar los fenotipos de cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido en tres establecimientos privados de salud localizados en las regiones de la costa, la sierra y la selva de Perú.

Materiales y métodos. Se llevó a cabo durante el 2016 un estudio descriptivo de 98 muestras de orina de pacientes con infección urinaria, 35 procedentes de Lima (costa), 38 de Juliaca (sierra) y 25 de Iquitos (selva), en el que se determinó la sensibilidad antimicrobiana utilizando ocho discos antibióticos.

Asimismo, se evaluó la producción de betalactamasas de espectro extendido con discos de cefotaxima, de ceftazidima o de su combinación, con ácido clavulánico en agar Mueller-Hinton.

Resultados. Se identificaron 18 perfiles de resistencia que incluían desde los sensibles a todos los antibióticos hasta los resistentes simultáneamente a siete antibióticos, con el 18,4 % de aislamientos resistentes a un antibiótico y el 54,0 % de multirresistentes. Se detectó producción de betalactamasas en el 28,6 % de las cepas procedentes de la región de Puno. También, se observó un mayor número de casos en el rango de edad de 31 a 45 años con resistencia a ceftazidima, ceftriaxona, gentamicina y trimetoprim-sulfametoxazol en el establecimiento de salud de Puno.

Conclusión. Los perfiles de resistencia variaron según la localización geográfica del establecimiento de salud, observándose mayor resistencia a los antibióticos en la región de la sierra de Perú, con el 28,6 % de cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido.

Palabras clave: Enterobacteriaceae; pruebas antimicrobianas de difusión por disco; infecciones urinarias; beta-lactamasas; resistencia a medicamentos; Perú.

Recibido: 25/01/2019
Aceptado: 18/10/2019
Publicado: 29/10/2019

Citación:
Marcos-Carbajal P, Galarza-Pérez M, Huancahuire-Vega S, Otiniano-Trujillo S, Soto-Pastrana J. Comparación de los perfiles de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* uropatógena e incidencia de la producción de betalactamasas de espectro extendido en tres establecimientos privados de salud de Perú. *Biomédica*. 2020;40(Supl.1):139-47. <https://doi.org/10.7705/biomedica.4772>

Correspondencia:
Pool Marcos-Carbajal | Laboratorio de Microbiología

2. Marcos-Carbajal, P., Salvatierra, G., Yareta, J., Pino, J., Vásquez, N., Diaz, P., ... & Tsukayama, P. (2021). Caracterización microbiológica y molecular de la resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* uropatógenas de hospitales públicos peruanos. *Revista peruana de medicina experimental y salud pública*, 38, 119-123.

<http://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2021.381.6182>.

REV PERU MED EXP SALUD PUBLICA. 2021;38(1):119-23.

ORIGINAL BREVE

CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA Y MOLECULAR DE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE *Escherichia coli* UROPATÓGENAS DE HOSPITALES PÚBLICOS PERUANOS

Pool Marcos-Carbajal^{1,2,*}, Guillermo Salvatierra^{3,2,b,c}, José Yareta³, Jimena Pino^{3,2,*}, Nancy Vásquez³, Pilar Díaz^{4,*}, Isabel Martínez⁵, Percy Asmat⁶, Carlos Peralta^{7,*}, Caridad Huamani⁸, Alexander Briones⁹, Manuel Ruiz¹⁰, Nicomedes Laura¹⁰, Álvaro Luque¹¹, Leonel Arapa¹², Pablo Tsukayama^{12,*}

¹ Laboratorio de Investigación en Biología Molecular, EP Medicina Humana, Universidad Peruana Unión, Lima, Perú.

² Laboratorio de Genómica Microbiana, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú.

³ Laboratorio de Microbiología, Hospital Antonio Lorena, Cuzco, Perú.

⁴ Servicio de Microbiología, Laboratorio de Referencia Regional Salud Pública San Martín, Tarapoto, Perú.

⁵ Servicio de Microbiología, Laboratorio de Referencia Regional de Salud Pública Tumbes, Tumbes, Perú.

⁶ Servicio de Microbiología, Laboratorio de Referencia Regional Salud Pública, La Libertad, Trujillo, Perú.

⁷ Área de Microbiología, IPRESS Jorge Chávez, Madre de Dios, Perú.

⁸ Servicio de Microbiología, Hospital Regional de Loreto, Iquitos, Perú.

⁹ Área de Microbiología, Clínica Adventista Ana Stahl, Iquitos, Perú.

¹⁰ Servicio de Microbiología, Laboratorio de Referencia Regional de Salud Pública Huancavelica, Huancavelica, Perú.

¹¹ Área de Microbiología, Clínica Americana Juliaca, Juliaca, Perú.

¹² Laboratorio de Microbiología, Hospital Carlos Monge Medrano, Juliaca, Perú.

* Biólogo; ^b médico veterinario; ^c magister en Biología Molecular; ^d tecnólogo médico; ^e técnico en laboratorio; ^f doctor en Microbiología Molecular.

RESUMEN

Se caracterizó la resistencia antimicrobiana de 70 aislados de *Escherichia coli* obtenidos de pacientes con infección del tracto urinario (ITU) provenientes de ocho hospitales públicos en el Perú. Los perfiles de resistencia fueron identificados mediante el uso del sistema automatizado MicroScan®. Se utilizó una reacción en cadena de la polimerasa convencional para la detección de los genes bla_{TEM} , bla_{CTX-M} , bla_{SHV} y bla_{OXA} . El 65,7% (46/70) de los aislados presentó un fenotipo multidrogoresistente y el 55,7% (39/70) fue identificado como productores de betalactamasas de espectro extendido. Se detectaron altos niveles de resistencia para ampicilina (77,1%), ciprofloxacina (74,3%), trimetoprim/sulfametoxazol (62,9%), cefepime (57,1%) y cefuroxima (57,1%). El gen bla_{TEM} fue el más frecuente con un 31,4%, seguido por bla_{CTX-M} (18,6%) y bla_{SHV} (2,9%). Los resultados evidencian altos niveles de resistencia a antimicrobianos de importancia clínica en aislados de *E. coli* de pacientes con ITU en el Perú.

Palabras clave: *Escherichia coli*; Farmacorresistencia Bacteriana; Resistencia betalactámica; Enfermedades Urológicas; Perú (fuente: DeCS BIREME).

3. Fajardo-Loyola, A., Yareta-Yareta, J., Meza-Fernandez, H., Soto-Pastrana, J., & Marcos-Carbajal, P. (2023). Características moleculares de aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* resistentes a antibióticos obtenidos de muestras de orina de pacientes con infección del trato urinario en Lima y Callao, Perú. *Revista de la Facultad de Medicina*, 71(3), e104282-e104282.

<https://doi.org/10.15446/revfacmed.v71n3.104282>.



Revista de la Facultad de Medicina

ORIGINAL RESEARCH

Molecular characteristics of antibiotic-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates obtained from urine samples of patients with urinary tract infection in Lima and Callao, Peru

Características moleculares de aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* resistentes a antibióticos obtenidos de muestras de orina de pacientes con infección del trato urinario en Lima y Callao, Perú

Alexander Fajardo-Loyola¹, José Yareta-Yareta², Henry Meza-Fernández³, Javier Soto-Pastrana⁴, Pool Marcos-Carbajal^{1,5}

¹ Universidad Nacional Federico Villarreal - Faculty of Natural Sciences and Mathematics - Professional School of Biology - Lima - Peru.
² Universidad Peruana Unión - Faculty of Health Sciences - Professional School of Human Medicine - Molecular Biology Research Laboratory - Naña - Peru.

³ Hospital Alberto Sabogal Sologuren - Department of Clinical Pathology - Microbiology Service - Bellavista, Callao - Peru.

⁴ Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé - Department of Clinical Pathology - Microbiology Area - Lima - Peru.

⁵ Universidad de San Martín de Porres - Faculty of Human Medicine - Center for Research in Traditional Medicine and Pharmacology - Santa Anita - Peru.

Abstract

Introduction: Urinary tract infections (UTI) are the second most frequent disease caused by bacteria, mainly *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. Furthermore, the emergence of multidrug-resistant extended-spectrum β -lactamases (ESBL)-producing bacteria is a serious public health issue.

Objective: To describe the molecular characteristics of ESBL-producing *E. coli* and *K. pneumoniae* isolates obtained from urinary samples of Peruvian patients with UTI.

Materials and methods: Retrospective, descriptive, cross-sectional study, in which 118 isolates obtained from urine cultures of patients with UTI treated at 2 hospitals located in the province of Lima and 1 in the province of Callao between April and August, 2019, were analyzed. A MicroScan™ automated system and a conventional polymerase chain reaction (PCR) test were used to identify resistance profiles and detect ESBL genes, respectively.

Results: All the bacteria isolated in the 3 hospitals were multi-drug resistant (105 *E. coli* and 13 *K. pneumoniae*). Coexistence of ESBL genes (*bla_{TEM}*, *bla_{CTX-M}*, *bla_{SHV}*) was observed in 32.20% of the isolates (28.57% of *E. coli* and 61.53% of *K. pneumoniae* isolates). Coexistence of 2 and 3 genes was found in 12.71% and 21.18% of isolates, respectively. In addition, *bla_{TEM}* was the ESBL gene most frequently expressed in the isolates (45.76%).

Conclusions: Multiple drug resistance was found in all isolates analyzed. Additionally, coexistence of ESBL genes was observed in almost one third of the isolates, showing that antibiotic resistance is a real problem in public hospitals in the provinces of Lima and Callao.



Open access

Received: 16/08/2022

Accepted: 13/06/2023

Corresponding author: Pool Marcos-Carbajal, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Medicina Humana, Universidad Peruana Unión, Naña, Peru. Email: poolmarcos@upeu.edu.pe.

Keywords: *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae*; Drug Resistance; Bacteria; Beta-Lactam Resistance; Genes; Peru. (MeSH).

Palabras clave: *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae*; Farmacorresistencia Bacteriana; Resistencia betalactámica; Genes; Perú (DeCS).

How to cite: Fajardo-Loyola A, Yareta-Yareta J, Meza-Fernández H, Soto-Pastrana J, Marcos-Carbajal P. (2023). Características moleculares de aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* resistentes a antibióticos obtenidos de muestras de orina de pacientes con infección del trato urinario en Lima y Callao, Perú. *Revista de la Facultad de Medicina*, 71(3), e104282-e104282.

4. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública: Original article
Título potencial: Diversidad genómica de *Escherichia coli* uropatógena en
aislados clínicos de 6 países de Latinoamérica, 2018-2023 (Sometido, No publicado)

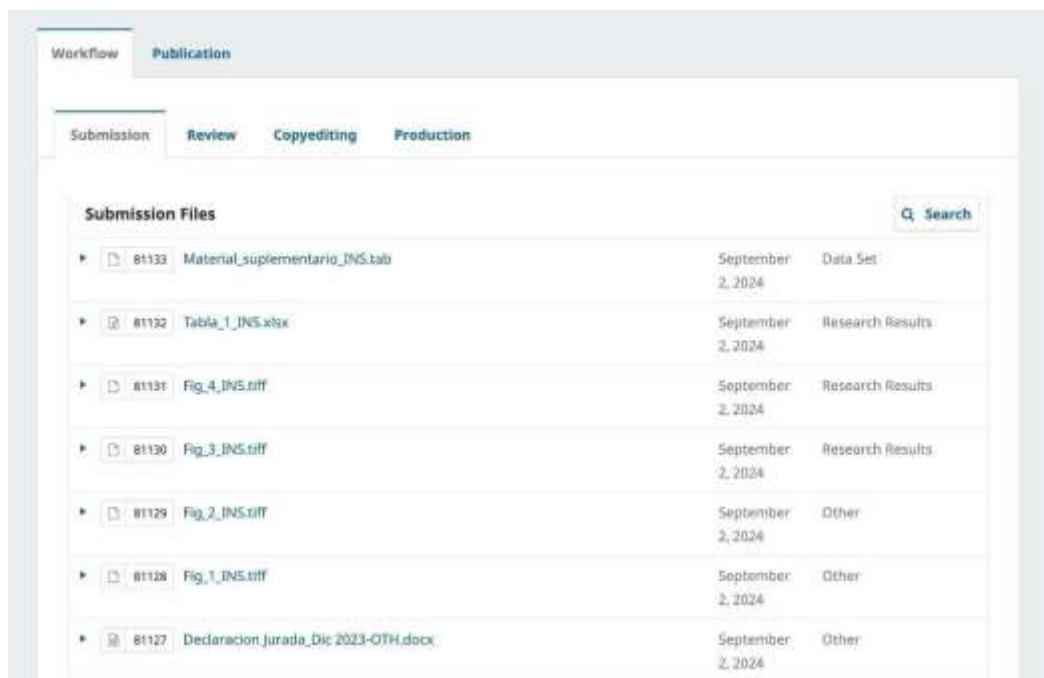


Figura 1. Diagrama de flujo STROBE sobre búsqueda de secuencias genómicas de UPEC en la base de datos del NCBI Isolates Browser en Latinoamérica y reads provenientes de aislados de pacientes con ITU en Perú.

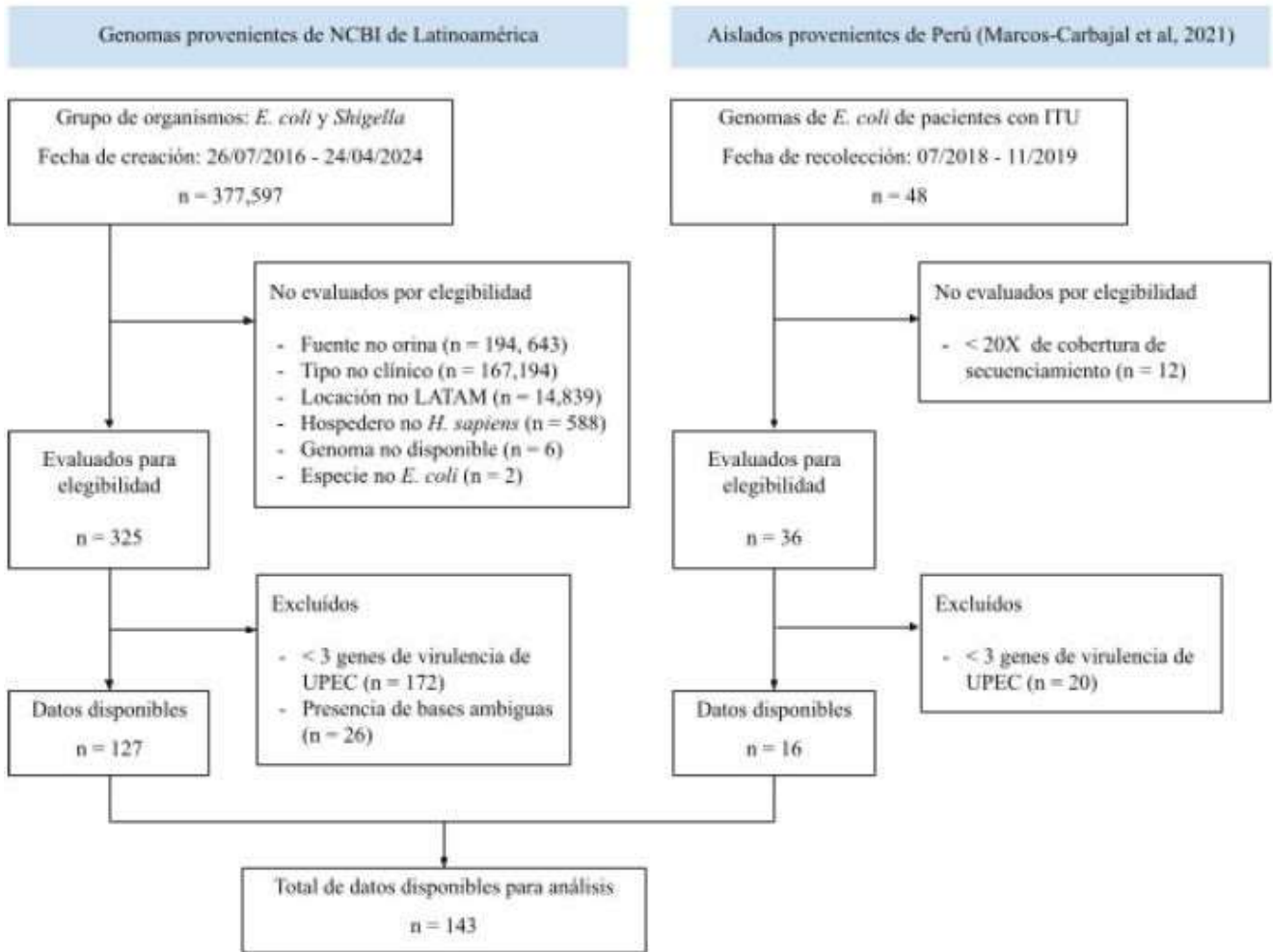


Figura 2. Diagrama de flujo del plan de trabajo.

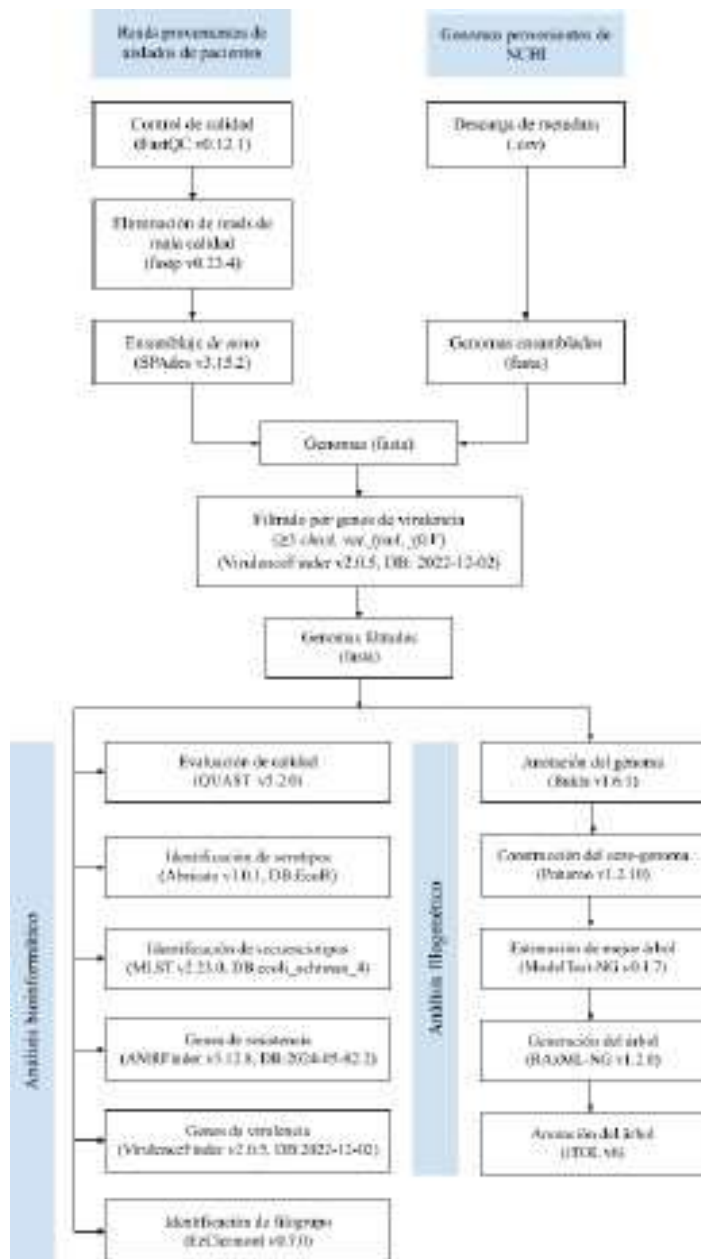


Figura 3. Distribución geográfica de clones de UPEC en Latinoamérica.

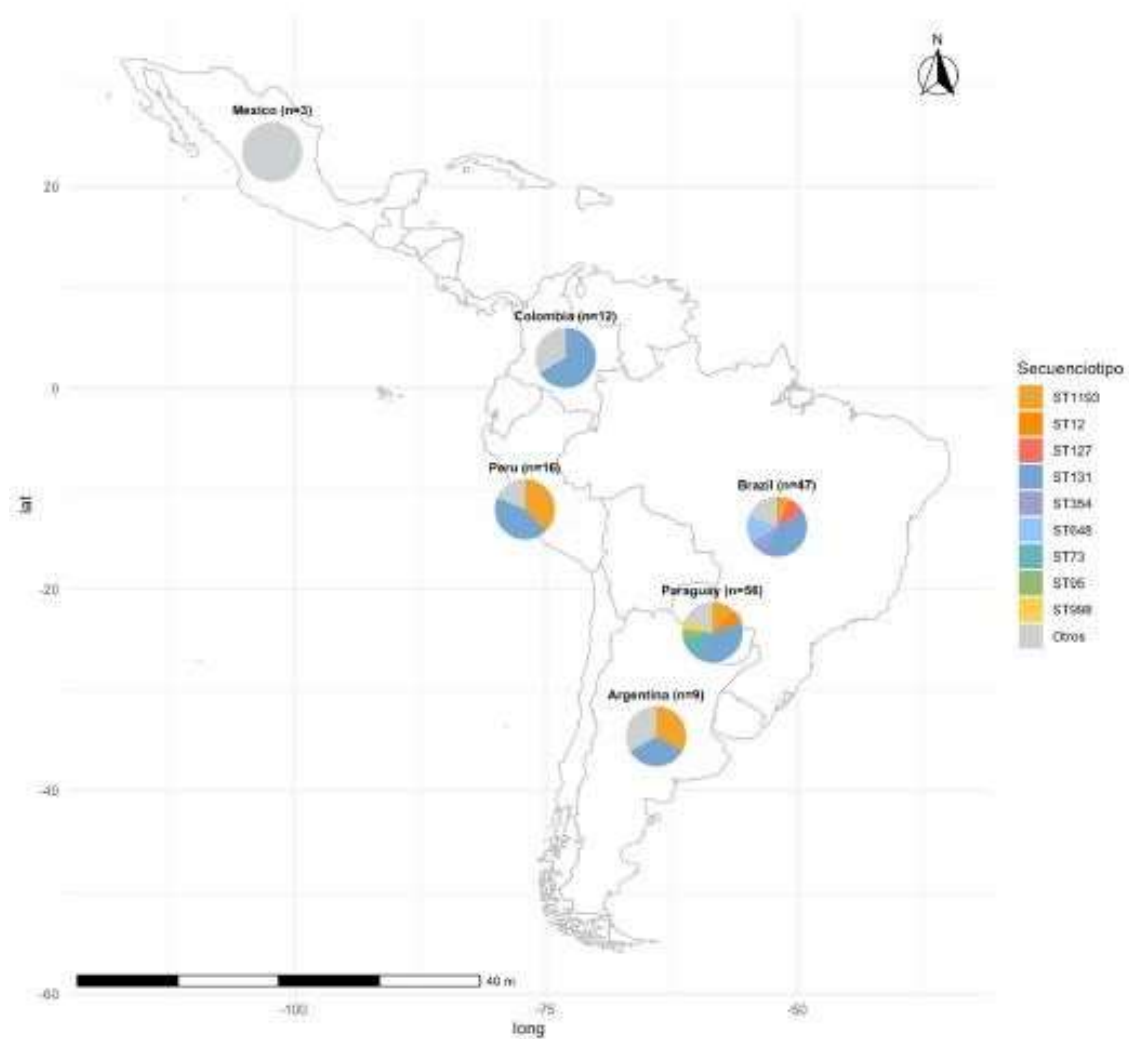
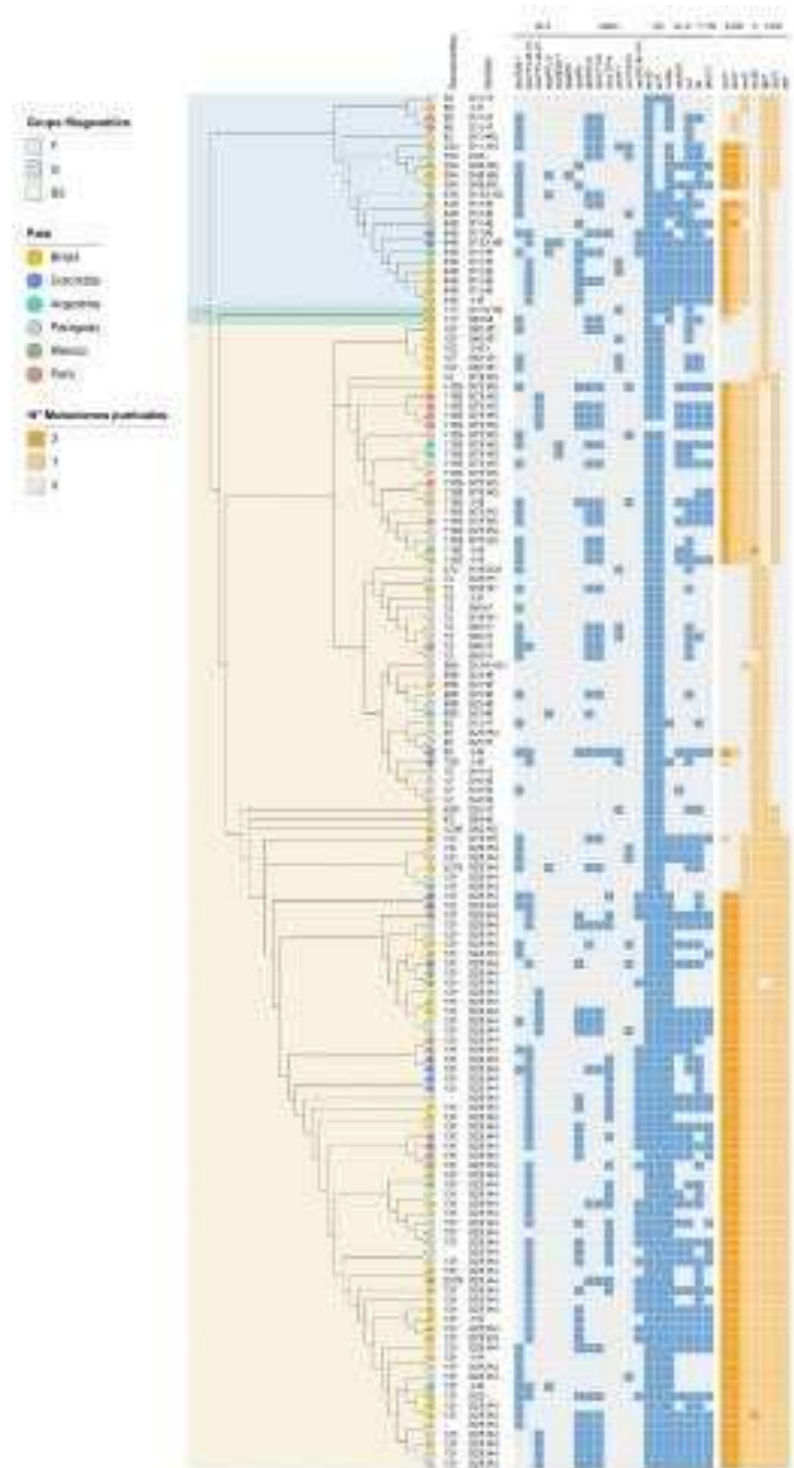


Figura 4. Árbol filogenético de 143 aislados de UPEC de Latinoamérica durante 2018 y 2023.



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

Tabla 1. Predicción *in silico* de serotipo, secuenciotipo y mutaciones puntuales asociadas a resistencia en genomas UPEC, 2018-2023 (n=143).

Tabla 1. Predicción *in silico* de serotipo, secuenciotipo y mutaciones puntuales asociadas a resistencia en genomas UPEC, 2018-2023 (n=143).

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>gipT</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	51 (35.7)	Paraguay (19) Brasil (16) Colombia (8) Perú (6) 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	16 (11.1)	Paraguay (7) Perú (6) Argentina (2) Brasil (1)
3	648	O1:H6	<i>qvaA</i> (S352T), <i>gipT</i> (E448K), <i>gyrA</i> (D87N), <i>gyrA</i> (S83L), <i>parC</i> (S80I), <i>parE</i> (S458A)	2	7 (4.9)	Brazil (4) Argentina (1) Colombia (1) Paraguay (1)
4	998	O2:H6	<i>gipT</i> (E448K), <i>marR</i> (S3N), <i>pmrB</i> (E123D)	7	5 (3.5)	Paraguay (3) Argentina (1) Brazil (1)