



# IDENTIFICACIÓN DE *Escherichia coli* UROPATÓGENA POR REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA MÚLTIPLE Y SEROTIPIFICACIÓN.



Arenas-Hernández Margarita María de la Paz<sup>1</sup>; Navarro-Ocaña Armando<sup>2</sup>; Martínez Alvarado Jaqueline<sup>3</sup>; Martínez-Laguna Ygnacio<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, ICUP-BUAP. <sup>2</sup>Facultad de Medicina, UNAM; México, D.F. <sup>3</sup>Facultad de Cs Qs, BUAP. Puebla, Pue, México.

## INTRODUCCION

El principal agente etiológico de las ITU es *Escherichia coli* uropatógena (UPEC), la cual se asocia con el 80 % de las UTIs registradas. UPEC presenta diversos factores de virulencia entre los que se incluyen factores de adherencia (fimbrias P, de tipo 1, S, M FIC y Dr), alfa-hemolisina (Hly), lipopolisacárido (LPS), aerobactinas, proteasas autotrasportadoras (Sat y Vat), Factor Necrosante Citotóxico 1 (CNF-1), sideróforos y mayor producción de antígeno capsular (antígeno K). Las cepas de UPEC pertenecen a un limitado número de serogrupos (O1, O2, O4, O6, O7, O8, O16, O18, O25, O62 Y O75) y se relacionan principalmente con los serotipos: O1:H4, O1:H6, O1:H7, O1:H-, O2:H1, O2:H4, O4:H5, O6:H1, O7:H4, O7:H6, O7:H-, O8, O16, O18ac:H7, O18ac:H-, O22:H1, O25:H1, O75:H5 y O75:H7 (Wiles *et al.*, 2008; Sainz *et al.*, 2008). UPEC posee el potencial de convertirse en un patógeno epidemiológicamente importante por el incremento en el aislamiento de cepas multiresistentes a los antimicrobianos. Aunque el tracto urinario humano presenta varios mecanismos antimicrobianos, UPEC presenta diversos mecanismos que le permiten persistir en el sistema urinario del hospedero, fenómeno que está relacionado con la recurrencia y cronicidad del padecimiento. Actualmente se tiene gran avance en el conocimiento de la genética, factores de virulencia y la patofisiología de la enfermedad que produce este importante patógeno y aunque aún falta mucho para entender la relación de UPEC con el hospedero humano, el uso de herramientas relativamente sencillas como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la serología llevaron al conocimiento de los factores de virulencia y serotipos asociados a cepas UPEC aisladas en nuestra población. Esto con el fin de implementar un mejor tratamiento y resolución de enfermedad (Arenas-Hernández *et al.*, 2012).

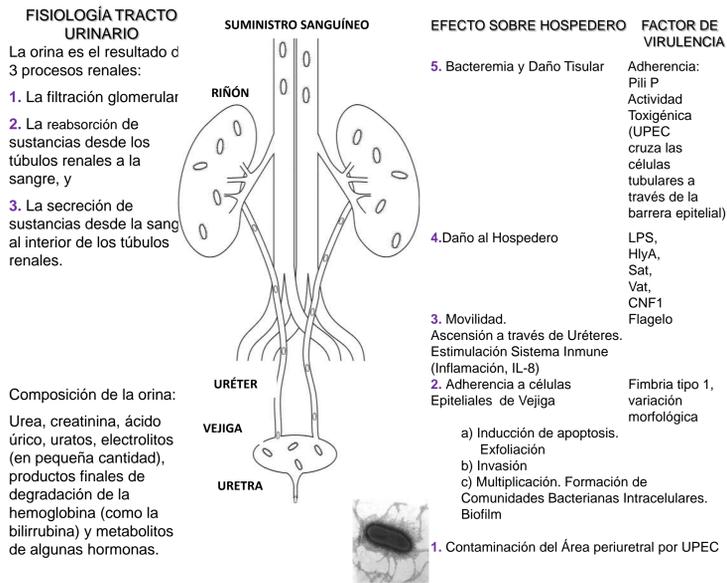


Figura 1. Fisiología y Anatomía del Tracto Urinario Humano. Efectos de la Interacción de UPEC con las diferentes zonas del tracto urinario y principales factores de virulencia de UPEC

## OBJETIVOS

- Análisis de población susceptible de ITU por UPEC
- Determinación del perfil de resistencia de UPEC a doce antimicrobianos.
- Determinación del serotipo de las cepas de *Escherichia coli*.
- Identificación de genes de virulencia

## METODOLOGÍA

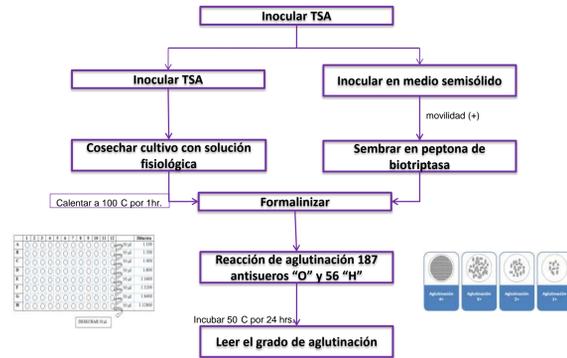
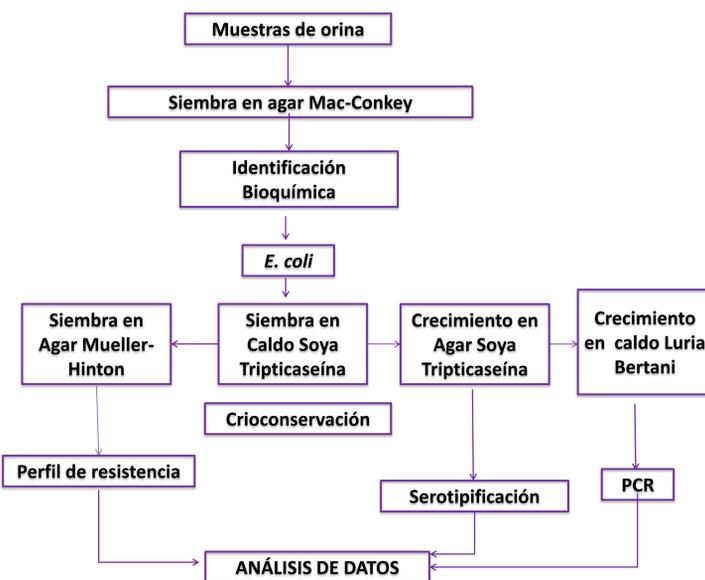


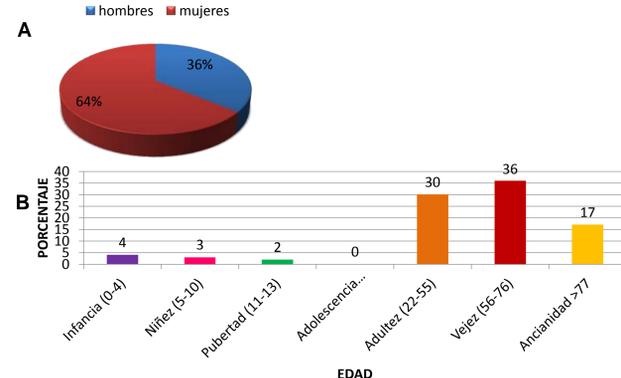
Figura 2. Esquema de trabajo para serotipificación y escala de asignación de reacción de aglutinación antígeno-anticuerpo (Ørskov *et al.*, 1984).



Figura 3. Esquema de trabajo para PCR individual y múltiple.

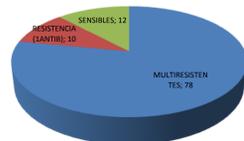
## RESULTADOS

### MAYOR FRECUENCIA DE UTIs EN MUJERES Y VEJEZ /ADULTOS.

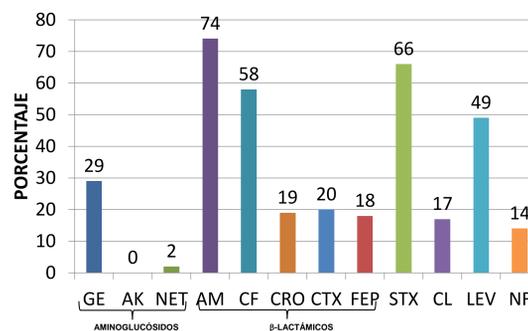


Gráfica 1. Distribución de cepas de *E. coli* aisladas de ITU respecto a sexo (A) y edad (B) (criterios INEGI para grupos de edad).

### ALTO PORCENTAJE DE MULTIRRESISTENCIA DE CEPAS UPEC



### ALTA RESISTENCIA DE UPEC A β-LACTÁMICOS Y TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL.



Gráfica 2. Comportamiento de cepas de *E. coli* aisladas de ITU frente a los antibióticos usados en su tratamiento (A) y porcentaje de resistencia de 125 cepas de UPEC aisladas de ITU.

Multiresistente= Resistente a dos o más antibióticos de familias diferentes. AK= Amikacina, GE= Gentamicina, NET= Netilmicina, CF= Cefalotina, CRO= Ceftriaxona, CTX= Cefotaxima, FEP= Cefepime, AM= Ampicilina, STX= Trimetoprim-Sulfametoxazol, CL= Cloranfenicol, LEV= Levofloxacina, NF= Nitrofurantoina.

### EL SEROGRUPO O25 ES EL MÁS FRECUENTE EN CEPAS DE *Escherichia coli* AISLADAS DE ITUS

RESULTADOS DE SEROTIPIFICACIÓN	PORCENTAJE (NÚMERO)	SEROGRUPOS
TIPIFICABLES	52 (65)	O25 (12), O6 y O8 (6), O100 (4), O17 (3), O7, O11, O16, O22, O73, O75, O84, O102, O153, O157 y O8414 (2), O1, O2, O3, O12, O15, O20, O44, O78, O86, O152, O159, O171 y O180 (1)
NO TIPIFICABLES	16.8 (21)	
O-	8.8 (11)	
ND	22.4 (28)	

Tabla 1. Frecuencia de serogrupos (29) en 97 cepas de *E. coli* aisladas de ITU

### SEROTIPOS DE *Escherichia coli* AISLADAS DE UTIs RELACIONADOS CON UPEC Y CON ECDA.

Serotipos	Frecuencia	Patotipo
O25:H4	10	UPEC
O17:H18	3	UPEC, STEC
O6:H1	3	UPEC
O157:H21	2	Serogrupo EHEC
O102:H6	2	UPEC, STEC
O6:H-	2	UPEC, ETEC, STEC
O75:H-	2	UPEC, STEC
O100:H12	2	Indefinido
O8:H9	2	ETEC
O8:H11	2	Serogrupo ETEC
O11:H18	2	UPEC, STEC
O7:H-	2	UPEC

Tabla 2. Frecuencia de serotipos de cepas de *E. coli* aisladas de ITU y su relación con patotipos (Revisión bibliográfica)

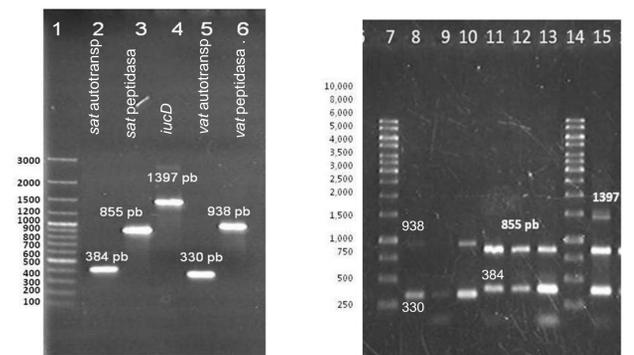
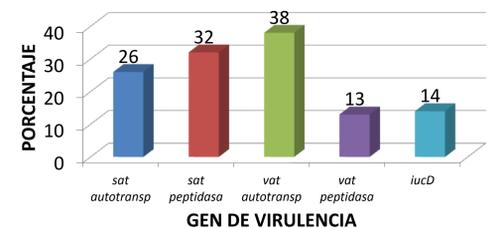


Fig 4. Identificación de factores de virulencia de UPEC por PCR. Geles representativos de PCR individual y múltiple de *iucD*, *sat* y *vat* para la cepa control de UPEC, CFT073. Carril 1. 100 pb PLUS Fermentans. Carril 2. sat autotransportador (384 pb). Carril 3. sat peptidasa (855 pb). Carril 4. *iucD* (1397 pb). Carril 5. vat autotransportador (330 pb). Carril 6. vat peptidasa (938 pb).



Gráfica 4. Frecuencia de genes de virulencia identificados por PCR múltiple en 125 cepas de *Escherichia coli* aisladas de UTI.

Cepa	Serotipo	Perfil de resistencia antimicrobiana	vat pep 938 pb	vat aut 330 pb	iucD 1338 pb	sat pep 855 pb	sat aut 384 pb
003 I	O25:H4	AM <sup>r</sup> , CF <sup>r</sup>		LEV <sup>r</sup>			
018 I	O25:H4	GE <sup>r</sup> , AM <sup>r</sup> , CF <sup>r</sup> , CRO <sup>r</sup> , CTX <sup>r</sup> , FEP <sup>r</sup>	X	X		X	X
019 I	O25:H4	CF <sup>r</sup> , CRO <sup>r</sup>					
030 I	O25:H4	GE <sup>r</sup> , AM <sup>r</sup>		X		X	X
047 I	O25:H4	GE <sup>r</sup> , AM <sup>r</sup>			X	X	X
052 I	O25:H4	GE <sup>r</sup> , AM <sup>r</sup>		X	X	X	X
070 I	O25:H4	GE <sup>r</sup> , AM <sup>r</sup> , CF <sup>r</sup> , CRO <sup>r</sup> , CTX <sup>r</sup> , FEP <sup>r</sup>	X	X	X	X	X
079 I	O25:H4	GE <sup>r</sup> , AM <sup>r</sup>		X		X	X
07 H	O25:H4	GE <sup>r</sup> , AM <sup>r</sup>			X	X	X
12 H	O25:H4	GE <sup>r</sup> , AM <sup>r</sup> , CF <sup>r</sup>	X	X		X	X
TOTAL	10	7 8 5 3 2 2 6 9	1	6	4	8	8

Tabla 3. Características de cepas de serotipo O25:H4 de cepas de *E. coli* aisladas de ITU

## CONCLUSIONES

1. Los grupos de edad más afectados por las UTI causadas por *E. coli* son la adultez (30%) y la vejez (36%). El problema es más frecuente en el sexo femenino.
2. Las cepas de *E. coli* de ITU son multiresistentes en un 78%.
3. El mayor porcentaje de resistencia de UPEC a antimicrobianos fue a ampicilina (74%), sulfametoxazol-trimetoprim (66%) y cefalotina (58%).
4. Los serogrupos más frecuentes fueron O25, O6, O8, O100 y O17, estos dos últimos solo reportados en este estudio.
5. Los serotipos más frecuentes fueron O25:H4, O17:H18 nuevos serotipos reportados y O6:H1, reconocido como UPEC.
6. Las cepas del serotipo O25:H4 son multiresistentes, 80% AM<sup>r</sup>, 90% LEV<sup>r</sup>, y 80% posee el gen de la toxina Sat
7. De ITU, se aislaron serotipos UPEC e importantemente serotipos de DAEC
8. Los genes de virulencia *vat* y *sat* se detectaron con mayor frecuencia