

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales

Prevalencia de familias de Betalactamasas de Espectro Extendido en *Escherichia coli* aisladas de urocultivos de pacientes ambulatorios

Alejandro Geovanny Heredia Alban

Ingeniería en biotecnología

Trabajo de fin de carrera
presentado como requisito para la
obtención del título de
Ingeniero en biotecnología

Quito, 29 de Noviembre de 2024

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE
QUITO USFQ**

Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales

**HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA**

**Prevalencia de familias de Betalactamasas de Espectro
Extendido en *Escherichia coli* aisladas de urocultivos de
pacientes ambulatorios**

Alejandro Geovanny Heredia Alban

Nombre del profesor, Título académico

Cristina Chávez, MSc

Quito, 29 de Noviembre de 2024

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: Alejandro Geovanny Heredia Alban

Código: 00323101

Cédula de identidad: 1722976923

Lugar y fecha: Quito, 29 de noviembre de 2024

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETheses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETheses>.

RESUMEN

Este estudio se centra en la caracterización de las resistencias antimicrobianas en cepas de *Escherichia coli* aisladas de pacientes ambulatorios que asisten a un centro de salud en Quito, Ecuador, con un enfoque en identificar y analizar la prevalencia de genes BLEE, específicamente de las familias *bla*TEM, *bla*CTX-M, *bla*OXA y *bla*SHV. La investigación se justifica por el incremento global de infecciones resistentes a los tratamientos convencionales y su impacto en la salud pública, así como por la falta de estudios específicos en esta área geográfica. Utilizando técnicas de PCR múltiple, se evaluó la coexistencia de diferentes genes de resistencia y se clasificaron las cepas según sus niveles de multiresistencia. Los resultados indicaron una prevalencia del 20,08% de cepas productoras de BLEE entre los 603 urocultivos analizados. Entre las familias detectadas, *bla*TEM y *bla*CTX-M mostraron las mayores prevalencias, con valores del 93,33% y 84,17%, respectivamente, seguidas de *bla*OXA (65,83%) y *bla*SHV (13,33%). La coexistencia más común fue la combinación de las familias *bla*OXA / *bla*TEM / *bla*CTX-M, observada en el 45,38% de las cepas analizadas.

En cuanto a la resistencia a otras familias de antibióticos, ciprofloxacino (CIP) y trimetoprima/sulfametoxazol (SXT) presentaron niveles particularmente elevados, con tasas de resistencia del 82,5% y 78,33%, respectivamente. Por otro lado, antibióticos como imipenem (IMP) y nitrofurantoína (F/M) mostraron menor resistencia, con tasas de 0,00% y 0,83%, respectivamente.

Palabras clave: *Escherichia coli*, resistencia antimicrobiana, genes BLEE, multiresistencia, pacientes ambulatorios, *bla*OXA, *bla*TEM, *bla*CTX-M, *bla*SHV.

ABSTRACT

This study focuses on the characterization of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* strains isolated from outpatients attending a health center in Quito, Ecuador, with an emphasis on identifying and analyzing the prevalence of ESBL genes, specifically from the *bla*TEM, *bla*CTX-M, *bla*OXA, and *bla*SHV families. The research is justified by the global increase in infections resistant to conventional treatments and their impact on public health, as well as the lack of specific studies in this geographical area. Using multiplex PCR techniques, the coexistence of different resistance genes was evaluated, and the strains were classified according to their levels of multidrug resistance. The results indicated a prevalence of 20.08% of ESBL-producing strains among the 603 urine cultures analyzed. Among the detected families, *bla*TEM and *bla*CTX-M showed the highest prevalences, with values of 93.33% and 84.17%, respectively, followed by *bla*OXA (65.83%) and *bla*SHV (13.33%). The most common coexistence was the combination of the *bla*OXA / *bla*TEM / *bla*CTX-M families, observed in 45.38% of the analyzed strains.

Regarding resistance to other families of antibiotics, ciprofloxacin (CIP) and trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT) presented particularly high levels, with resistance rates of 82.5% and 78.33%, respectively. On the other hand, antibiotics such as imipenem (IMP) and nitrofurantoin (F/M) showed lower resistance, with rates of 0.00% and 0.83%, respectively.

Keys words: *Escherichia coli*, antimicrobial resistance, BLEE genes, multidrug resistance, outpatients, *bla*OXA, *bla*TEM, *bla*CTX-M, *bla*SHV.

Tabla de Contenido

INTRODUCCIÓN	10
MÉTODOS	13
Permiso del Comité de bioética	13
Prueba de BLEE con doble disco	13
Extracción de ADN por ebullición	13
Extracción de ADN por kit	14
PCR <i>fumC</i> Housekeeping de <i>E. coli</i>	14
RESULTADOS	16
Prevalencia de BLEE en <i>Escherichia coli</i>	16
Coexistencias de familias de BLEE	16
Perfil de resistencia a antibióticos	17
DISCUSIÓN	18
Prevalencia de betalactamasas de espectro extendido en <i>E. coli</i>	18
Distribución de familias de betalactamasas	18
Coexistencias de familias de BLEE	20
Perfil de resistencia a antibióticos	20
CONCLUSIONES	22
TABLAS	23
FIGURAS	25
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

Índice de Tablas

Tabla 1. Secuencias de los primers utilizados para la detección del gen <i>fumC</i>	23
Tabla 2. Primers utilizados para la detección de genes de BLEE en la PCR múltiplex.	23
Tabla 3. Distribución de las familias de betalactamasas en <i>E.coli</i> en el año 2024.	24

Índice de Figuras

Figura 1. Total, de muestras de E. coli beta lactamasas positivas obtenidas durante el periodo abril 2023 a abril 2024.	25
Figura 2. Distribución de las familias de betalactamasas en E. coli durante los años 2023 y 2024.	25
Figura 3. Gráfico de resistencia a antibióticos en E. coli en el año 2024.	26

INTRODUCCIÓN

La resistencia bacteriana a los antibióticos es uno de los mayores problemas de salud pública, uno de los ejemplos más significativos es la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) por parte de *Escherichia coli* (*E.coli*). Estas enzimas son capaces de hidrolizar una amplia gama de antibióticos betalactámicos, incluidos penicilinas, cefalosporinas (excepto cefamicinas) y monobactámicos como el aztreonam, limitando significativamente las opciones terapéuticas disponibles para el tratamiento de infecciones bacterianas (Jacoby & Munoz-Price, 2005). La detección de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) en *E. coli* es una preocupación creciente en pacientes con infecciones urinarias, especialmente en aquellos tratados en entornos ambulatorios.

Estas enzimas BLEE son codificadas por genes de las familias *bla*^{TEM}, *bla*^{SHV} y *bla*^{CTX-M}. La detección fenotípica de BLEE en el laboratorio clínico se realiza comúnmente mediante la prueba del doble disco, que evalúa la inhibición de la actividad enzimática por medio de la acción del ácido clavulánico. (Trupia et al., 2005) La clasificación de Ambler organiza las β -lactamasas en cuatro clases principales (A, B, C y D) de acuerdo con su estructura molecular. Dentro de esta clasificación, las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) se encuentran predominantemente en la clase A, e incluyen familias como *bla*^{CTX-M}, *bla*^{TEM} y *bla*^{SHV}. (Ur Rahman et al., 2018).

Entre estas familias, las *bla*^{CTX-M} han emergido como las BLEE más prevalentes a nivel mundial, atribuido a su capacidad de diseminación mediante plásmidos conjugativos de amplio rango, lo que facilita su propagación entre diferentes especies bacterianas. Las familias *bla*^{TEM} y *bla*^{SHV}, aunque inicialmente asociadas a resistencia a penicilinas, han adquirido actividad extendida a través de mutaciones que permiten la hidrolizar cefalosporinas de generación mayor, complicando el manejo clínico de las infecciones

(Ur Rahman et al., 2018). Este marco de clasificación es fundamental para comprender la creciente diversidad genética y funcional de las BLEE, cuya evolución y distribución global representan un desafío significativo para la salud pública. Las estrategias para abordar esta problemática incluyen la vigilancia constante de las variantes emergentes y el desarrollo de inhibidores efectivos que contrarresten su actividad.

Estudios recientes han evidenciado un incremento significativo en la prevalencia de *E. coli* productora de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en la comunidad. Por ejemplo, una investigación realizada en España encontró que el 5 al 10% de las cepas de *E. coli* aisladas de pacientes ambulatorios con infecciones urinarias eran productoras de BLEE (Miranda García, 2013a). Asimismo, un estudio en Colombia reportó una prevalencia del 12,5% de *E. coli* productora de BLEE en infecciones del tracto urinario en la comunidad (Blanco et al., 2016). El uso excesivo de carbapenémicos ha contribuido a la aparición de cepas de *E. coli* resistentes a estos antibióticos, limitando aún más las opciones terapéuticas disponibles (E-B Kruse et al., 2018). En Ecuador estudios han reportado una alta prevalencia de cepas productoras de BLEE en infecciones comunitarias. Por ejemplo, una investigación realizada en Quito encontró que el 18,4% de las cepas de *E. coli* aisladas de pacientes ambulatorios con ITU eran productoras de BLEE (Solís et al., 2022). Estas infecciones suelen requerir tratamientos más costosos y con mayores riesgos de efectos adversos, como el uso de carbapenémicos. (Aguilar-Zapata, 2015). En Ecuador, la fosfomicina se ha consolidado como una alternativa eficaz para el tratamiento de infecciones urinarias no complicadas en pacientes ambulatorios de infecciones por *E. coli* BLEE, debido a su efectividad y bajas tasas de resistencia (Cai et al., 2023). Esto la convierte en una opción viable de tratamiento. Estos hallazgos subrayan la necesidad de reforzar las estrategias de vigilancia epidemiológica y promover el uso racional de antibióticos para controlar la propagación de estas cepas resistentes.

Además, la implementación de medidas preventivas efectivas y el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas son esenciales para enfrentar la amenaza que supone la resistencia antimicrobiana en el país (Ur Rahman et al., 2018)

El presente estudio busca identificar la prevalencia de BLEE en *E. coli* aislada de urocultivos de pacientes ambulatorios durante el periodo 2023-2024 y conocer las familias de BLEE más prevalentes y sus coexistencias a través de pruebas moleculares, así como determinar a qué otras familias de antibióticos son resistentes y cuáles podrían ser una buena opción de tratamiento.

MÉTODOS

Permiso del Comité de bioética

La presente investigación fue aprobada por el Comité de Ética de Investigación de Seres Humanos (CEISH) de la Universidad San Francisco de Quito (USFQ), bajo el código 2023-068IN.

Prueba de BLEE con doble disco

La identificación fenotípica de cepas productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) se realizó mediante la prueba de doble disco, siguiendo las recomendaciones The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). En una placa petri con agar Mueller-Hinton se inoculó una suspensión de *E. coli* ajustada a un McFarland 0.5 (1.5×10^8 UFC/mL), se colocó cuatro discos: cefotaxime más ácido clavulánico (30/10 μ g), ceftazidime más ácido clavulánico (30/10 μ g) y discos que solo contenían cefotaxima (CTX; 30 μ g) y ceftazidima (CAZ; 30 μ g) separados por una distancia aproximada de 20 mm. Las placas se incubaron a 37°C por 18-24 horas y posteriormente se midieron los diámetros de los halos de inhibición. La detección del fenotipo BLEE se confirmó al determinar una diferencia de ≥ 5 mm entre los diámetros de las cefalosporinas de tercera generación sola y combinadas con ácido clavulánico (Lewis, 2024).

Extracción de ADN por ebullición

Para la extracción de ADN bacteriano mediante ebullición, se usó colonias en fase logarítmica y se suspendió en un volumen de 1.5 mL de agua grado molecular, se llevó el tubo con la bacteria a ebullición a baño maría, durante 10 minutos para facilitar la lisis celular después se centrifugó a $12,000 \times g$ por 2 minutos y el sobrenadante, que contenía el ADN, se transfirió cuidadosamente a un tubo estéril para su conservación a -20°C o su uso inmediato. La concentración de ADN se midió empleando un Nanodrop de termal

Fisher, utilizando 1 μ L de la muestra y agua destilada como blanco (Güssow & Clackson, 1989).

Extracción de ADN por kit

La extracción de ADN se realizó utilizando el kit GeneJET™ de Thermo Fisher Scientific. La concentración de ADN se midió con un Nanodrop de Thermal Fisher, utilizando agua de grado PCR como blanco.

PCR *fumC* Housekeeping de *E. coli*

Para fortalecer el diagnóstico de *Escherichia coli*, que previamente se identificó a través de pruebas bioquímicas (Cromorientation BD) se analizó un gen *housekeeping* frecuente de esta especie mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Para lo cual se usó el protocolo recomendado por (Wirth et al., 2006), utilizando el gen *fumC* con los siguientes primers con concentración de 0,5 μ l por muestra.

Las condiciones de amplificación en el termociclador consistieron en: desnaturalización inicial de 5 minutos a 95 °C, seguida de 30 ciclos de desnaturalización a 95 °C durante 30 segundos, alineamiento a una temperatura óptima (55 - 60°C) por 30 segundos, y extensión a 72 °C durante 1 minuto. Finalmente, se realizó una extensión final a 72 °C durante 5 minutos. El amplicon fue visualizado mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1 %, a 100 V durante 30-45 minutos.

Multiplex para identificar familias de BLEE

Se usó la PCR multiplex recomendada por (Fang et al., 2008)) con las siguientes modificaciones:

Se dividió en dos la PCR Multiplex, una para identificar *bla*OXA y *bla*TEM, y otra para amplificar *bla*CTX-M y *bla*SHV. Esta modificación no solo mejoró la resolución de los productos, sino también permitió una mayor especificidad en la identificación de estos genes de resistencia en las cepas de *Escherichia coli* estudiadas. Para ello, se utilizaron los siguientes primers con concentración de 0,2 µl por muestra.

Las condiciones de amplificación fueron: desnaturalización inicial a 95 °C durante 15 minutos, seguida de 30 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 30 segundos, alineamiento a 57 °C durante 1 minuto y 30 segundos, y extensión a 72 °C durante 1 minuto. Finalmente, se realizó una extensión final a 72 °C durante 10 minutos. Los productos de PCR fueron visualizados en un gel de 1% de agarosa, a 80V durante 60 min.

RESULTADOS

Prevalencia de BLEE en *Escherichia coli*

Durante el periodo abril 2023 a abril 2024, se obtuvo 603 urocultivos positivos para ITU y *E. coli*, estas muestras fueron obtenidas de pacientes ambulatorios, de este universo se identificaron 121 cepas de *E. coli* productoras de BLEE, estas representan el 20,07% del total de los aislados recolectados en este periodo.

Distribución de familias de betalactamasas

De las 121 cepas de *E. coli* que presentaron el fenotipo BLEE, se pudieron analizar 119 cepas con las que se procedió a ejecutar las pruebas moleculares. De las 119 cepas de *E. coli* analizadas 112 cepas presentaron el gen *bla*^{TEM} con un 93,33%, seguido a ello el gen *bla*^{CTX-M} con 101 cepas (84,17%), el gen *bla*^{OXA} con 79 cepas (65,83%) y finalmente el gen *bla*^{SHV} con 16 (13,33%).

La figura 2 resume la distribución de las familias de betalactamasas detectadas en los aislados de *E. coli* mediante la técnica de PCR múltiplex.

Coexistencias de familias de BLEE

De las 119 cepas analizadas, una de ellas que corresponde al 0,84%, no presento ninguno de los genes de las familias de betalactamasas analizadas. En cuanto a la familia *bla*^{TEM}, 6 cepas (5,04%), mostraron únicamente este gen. De igual manera, sucedió con otras 6 cepas (5,04%), que presentaron solo el gen para la familia *bla*^{CTX-M}.

En el caso de la coexistencia con dos familias, 24 cepas (20,17%) presentaron genes para las familias de *bla*^{TEM} / *bla*^{CTX-M}; por otro lado, 12 cepas (10,08%) mostraron los

genes para las familias *blaOXA* / *blaTEM*. Y finalmente, una sola cepa (0,84%) presento los genes para la familia *blaCTX-M* / *blaSHV*.

Para la coexistencia con tres familias se presentaron las siguientes combinación de genes de familias de betalactamasas: *blaOXA* / *blaTEM* / *blaCTX-M* y *blaTEM* / *blaCTX-M* / *blaSHV*; las cuales representan 54 cepas (45,38%) y 3 cepas (2,52%), respectivamente.

Finalmente, 12 cepas (10,08%), mostraron una coexistencia para los cuatro genes de las familias de betalactamasas analizados en este estudio, *blaOXA* / *blaTEM* / *blaCTX-M* / *blaSHV*.

Perfil de resistencia a antibióticos

El gráfico 3 muestra el perfil de resistencia antibiótica de los aislados de *E. coli* que presentaron el fenotipo de BLEE.

La mayor tasa de resistencia se observa en antibióticos como cefazolina (CZ), cefuroxima (CXM) y cefotaxima (CTX), con 115 cepas (95,83%), 114 cepas (95,00%) y 115 cepas (95,83%), respectivamente. La resistencia a la amoxicilina con ácido clavulánico (AMC) se presentó en 34 cepas (28,33%), seguido de trimetoprima/sulfametoxazol (SXT) con 94 cepas (78,33%) y ciprofloxacina (CIP) con 99 cepas (82,5%) de resistencia.

La tasa de resistencia a la ceftazidima (CAZ) fue de 43 cepas (35,83%), mientras que la fosfomicina (FOS) mostró 30 cepas (25,00%). La nitrofurantoína (F/M) presento una resistencia baja de 1 cepa (0,83%), y no se observa resistencia al imipenem (IMP), con 0 cepa (0%).

DISCUSIÓN

Prevalencia de betalactamasas de espectro extendido en *E. coli*

La distribución de cepas BLEE positivas en pacientes ambulatorios Gráfico 1, indica una prevalencia del 20%.

La propagación de *E. coli* productora de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) en Ecuador ha sido documentada en diversos estudios epidemiológicos. Inicialmente, esta resistencia se asociaba a infecciones nosocomiales; sin embargo, investigaciones recientes indican un incremento en infecciones de origen comunitario (Solís et al., 2022). Por ejemplo, un estudio realizado en Quito durante el año 2020 reportó que el 18,4% de las cepas de *E. coli* aisladas de pacientes ambulatorios con infecciones del tracto urinario eran productoras de BLEE (Solís et al., 2022). Este aumento se atribuye en parte al uso inapropiado de antibióticos tanto en el ámbito hospitalario como en la comunidad, así como a la limitada regulación del acceso a estos medicamentos (Ur Rahman et al., 2018). La prevalencia de *E. coli* productora de BLEE en infecciones comunitarias varía según la región. En Colombia, un estudio reportó que el 12.5% de las cepas aisladas de pacientes ambulatorios con infecciones urinarias eran BLEE positivas (Blanco et al., 2016). En Perú, el 16.3% de 353 cepas analizadas presentó BLEE, con factores asociados como hospitalización en pediatría, uso de pañal y vejiga neurogénica en adultos (Yábar et al., 2017). Estos hallazgos subrayan la necesidad de integrar factores clínico-epidemiológicos en el manejo de tratamientos, implementar programas de vigilancia y educación sobre el uso adecuado de antibióticos, y desarrollar políticas que reduzcan la diseminación de cepas resistentes en la comunidad.

Distribución de familias de betalactamasas

La distribución obtenida en el Figura 2 revela las familias de betalactamasas obtenidas durante el periodo de estudio, los resultados nos indican que las familias *bla*^{TEM} y

*bla*CTX-M en *E. coli*, con valores 93.33% y 84.17% respectivamente, son las familias que se hallaron en mayor porcentaje. La familia *bla*OXA también presenta una frecuencia notable (65,83%), mientras que la familia *bla*SHV aparece con una prevalencia menor (13,33%). Estos resultados reflejan una elevada diversidad y presencia de genes de resistencia en cepas de *E. coli* que afectan a pacientes ambulatorios de Quito en el 2024.

La alta prevalencia de las β -lactamasas *bla*TEM y *bla*CTX-M en *Escherichia coli* es consistente con estudios globales y regionales que las identifican como principales responsables de la resistencia a antibióticos en infecciones comunitarias. En Guatemala, se detectó el gen *bla*TEM en el 85% de los aislamientos de *E. coli* productoras de BLEE y el gen *bla*CTX-M en el 57% (Herrera García et al., 2019). De manera similar, en India, *bla*TEM fue el más frecuente (49.4%), seguido de *bla*CTX-M (31.97%), *bla*OXA (30.1%) y *bla*SHV (11.9%), resaltando la diversidad genética de estas enzimas en cepas clínicas, lo que facilita la propagación de la resistencia en la comunidad (Verma et al., 2023).

La frecuencia de *bla*SHV es menor en comparación con otras familias de betalactamasas, lo cual podría indicar que esta familia tiene un rol secundario en la resistencia a betalactámicos en *E. coli*. Sin embargo, su presencia en un 13,33% de las muestras implica que aún puede contribuir a la resistencia cuando está en combinación con otros genes de betalactamasas, un hallazgo que destaca la necesidad de monitorear no solo los genes más prevalentes, sino también aquellos que, aunque menos comunes, pueden facilitar la resistencia multigénica (Rodríguez-Baño et al., 2018).

En general, los datos sugieren que las cepas de *E. coli* en esta población tienen una alta capacidad para adquirir y mantener múltiples genes de betalactamasas, lo cual representa un desafío para el tratamiento de infecciones urinarias en la comunidad. Este escenario subraya la necesidad de establecer medidas de control que restrinjan el uso inadecuado

de antibióticos y promuevan alternativas terapéuticas para combatir infecciones resistentes.

Coexistencias de familias de BLEE

La Tabla 2 muestra una distribución significativa de resistencias en cepas de *E. coli*, destacando la prevalencia de coexistencias entre las diferentes familias de BLEE con un 88,33% del total de las cepas analizadas. Este resultado destaca la alta frecuencia de distintas combinaciones de genes de resistencia, en especial de los genes que codifican para BLEE, indicando la importancia de continuar monitoreando no solamente genes de resistencia a cefalosporinas sino también a otras familias de antibióticos que pueden tener. En Guatemala, un estudio identificó que el 53.2% de 79 aislamientos presentaron los genes *blaTEM*, *blaSHV* y *blaCTX-M*, mientras que un 25.3% tuvo *blaTEM* y *blaSHV*, y menores proporciones mostraron combinaciones dobles o genes individuales de betalactamasas. Solo el 10.1% fue negativo para estos genes específicos pero positivo para otras betalactamasas de espectro extendido, resaltando la prevalencia de cepas multirresistentes y la necesidad de vigilancia constante (García et al., 2019). De manera similar, en India, se observó una alta frecuencia de coexistencia de genes, siendo *blaTEM* y *blaCTX-M* los más comunes (50%), seguidos de combinaciones dobles y triples con *blaSHV*. Este estudio también subrayó la prevalencia de *blaTEM* y la capacidad de estas cepas para albergar múltiples genes de resistencia, lo que refuerza la necesidad de estrategias efectivas para frenar su propagación (Jena et al., 2017).

Perfil de resistencia a antibióticos

La resistencia antimicrobiana de *E. coli* en pacientes ambulatorios refleja patrones similares y divergentes en estudios de América Latina y Ecuador. Las tasas de resistencia superiores al 90% a cefalosporinas de tercera generación, como cefotaxima y cefuroxima,

evidencian el impacto de las enzimas BLEE, concordando con investigaciones regionales. Asimismo, la resistencia moderada a sulfametoxazol-trimetoprima (78.33%) y ciprofloxacina (82.5%) se alinea con estudios que señalan la disminución de su efectividad debido a su uso frecuente como tratamiento empírico para infecciones urinarias. Estos datos en pacientes ambulatorios de Quito destacan la necesidad de reconsiderar las opciones terapéuticas de primera línea en atención primaria (Horcajada & Fariñas, 2005).

En contraste, antibióticos como la fosfomicina (FOS) y la nitrofurantoína (F/M) muestran tasas de resistencia bajas, del 25% y 0.83%, respectivamente. Esto es coherente con estudios que indican que estos antibióticos siguen siendo opciones viables para el tratamiento de infecciones urinarias causadas por *E. coli* BLEE, ya que su mecanismo de acción difiere de las cefalosporinas y fluoroquinolonas, haciendo menos probable el desarrollo de resistencia (Cai et al., 2023). Además, la ausencia de resistencia a imipenem (IMP) es consistente con la literatura, ya que este antibiótico es un carbapenem y, debido a su costo y a su uso reservado para infecciones graves, no enfrenta la misma presión de selección (Miranda García, 2013).

Las múltiples resistencias observadas en *Escherichia coli*, también puede estar asociadas a la presencia de clones exitosos como *E. coli* ST131, reportados frecuentemente en la literatura. (Nicolas-Chanoine et al., 2014).

CONCLUSIONES

En este estudio, se determinó que el 20,07% de las cepas de *E. coli* aisladas de urocultivos de pacientes ambulatorios presentaron la producción de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), lo cual sugiere la necesidad de una vigilancia epidemiológica continua y de generar estrategias efectivas para controlar la propagación de estas cepas resistentes.

Las familias de BLEE más prevalentes identificadas en este estudio fueron *blaTEM* y *blaCTX-M*, con tasas de prevalencia del 93,33% y 84,17%, respectivamente, lo que resalta su relevancia en la resistencia a cefalosporinas y subraya la necesidad de nuevos enfoques terapéuticos y sistemas regulatorios para controlar la resistencia antimicrobiana. Se registraron altas tasas de resistencia a cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación, como cefazolina (95,83%), cefuroxima (95,00%) y cefotaxima (95,83%). Además, otras familias de antibióticos también mostraron elevada resistencia, como las sulfonamidas (78,33% para trimetoprima/sulfametoxazol) y fluoroquinolonas (82,5% para ciprofloxacina). Estas cifras reflejan opciones terapéuticas limitadas para infecciones por *E. coli* BLEE, destacando la importancia de alternativas como la fosfomicina y la nitrofurantoína, que presentan bajas tasas de resistencia.

Finalmente, este estudio resalta la importancia de la vigilancia epidemiológica continua para monitorear la prevalencia y la distribución de los genes BLEE en la población. Además, es fundamental dar seguimiento a otras familias de genes que codifican para betalactamasas, que pueden circular tanto a nivel ambulatorio como hospitalario. Estas acciones son esenciales para desarrollar estrategias efectivas de control y prevención de la resistencia a los antimicrobianos, asegurando así tratamientos eficaces para las infecciones bacterianas en el futuro.

TABLAS

*Tabla 1. Secuencias de los primers utilizados para la detección del gen *fumC*.*

Gen	Secuencia de los primers (5' a 3')
<i>fumC</i>	Forward: TCACAGGTCGCCAGCGCTTC
	Reverse: GTACGCAGCGAAAAAGATTC

Tabla 2. Primers utilizados para la detección de genes de BLEE en la PCR múltiplex.

Genes	Secuencia de los Primers (5' a 3')
<i>bla</i> OXA	Forward: ACA CAA TAC ATA TCA ACT TCG C Reverse: AGT GTG TTT AGA ATG GTG ATC
<i>bla</i> TEM	Forward: CGC CGC ATA CAC TAT TCT CAG AAT GA Reverse: ACG CTC ACC GGC TCC AGA TTT AT
<i>bla</i> CTX-M	Forward: ATG TGC AGY ACC AGT AAR GTK ATG GC Reverse: TGG GTR AAR TAR GTS ACC AGA AYC AGC GG
<i>bla</i> SHV	Forward: CTT TAT CGG CCC TCA CTC AA Reverse: AGG TGC TCA TCA TGG GAA AG

Tabla 3. Distribución de las familias de betalactamasas en *E.coli* en el año 2024.

Distribución de las resistencias			
	Familias	# de muestras	
		BLEE+	Porcentaje
Sin Coexistencia	Ninguna familia	1	0,84
	<i>bla</i> TEM	6	5,04
	<i>bla</i> CTX-M	6	5,04
Coexistencia con 2 familias	<i>bla</i> TEM / <i>bla</i> CTX-M	24	20,17
	<i>bla</i> OXA / <i>bla</i> TEM	12	10,08
	<i>bla</i> CTX-M / <i>bla</i> SHV	1	0,84
Coexistencia con 3 familias	<i>bla</i> OXA / <i>bla</i> TEM / <i>bla</i> CTX-M	54	45,38
	<i>bla</i> TEM / <i>bla</i> CTX-M / <i>bla</i> SHV	3	2,52
Coexistencia con 4 familias	<i>bla</i> OXA / <i>bla</i> TEM / <i>bla</i> CTX-M / <i>bla</i> SHV	12	10,08
Total		119	100,00

FIGURAS



Figura 1. Total, de muestras de *E. coli* beta lactamasas positivas obtenidas durante el periodo abril 2023 a abril 2024.

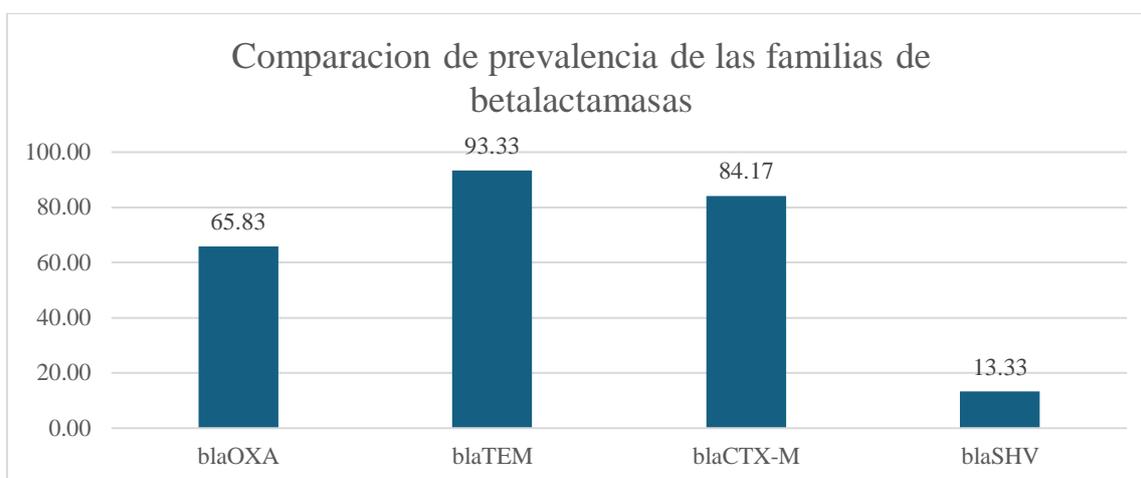


Figura 2. Distribución de las familias de betalactamasas en *E. coli* durante los años 2023 y 2024.

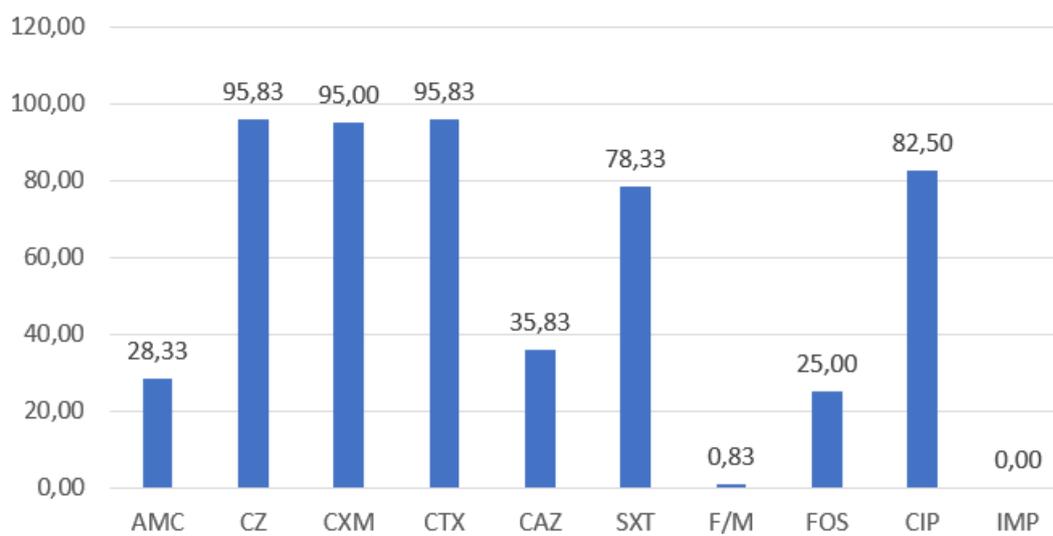


Figura 3. Gráfico de resistencia a antibióticos en *E. coli* en el año 2024.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar-Zapata. (2015). *E. coli BLEE, la enterobacteria que ha atravesado barreras*.
- Blanco, V. M., Maya, J. J., Correa, A., Perenguez, M., Muñoz, J. S., Motoa, G., Pallares, C. J., Rosso, F., Matta, L., Celis, Y., Garzon, M., & Villegas, M. V. (2016). Prevalencia y factores de riesgo para infecciones del tracto urinario de inicio en la comunidad causadas por Escherichia coli productor de betalactamasas de espectro extendido en Colombia. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2015.11.017>
- Cai, T., Verze, P., Arcaniolo, D., Pandolfo, S. D., Smarrazzo, F., Manfredi, C., Tascini, C., Caciagli, P., Lanzafame, M., De Sio, M., Wagenlehner, F., Johansen, T. E. B., & Palmieri, A. (2023). Antibiotic Resistance Patterns Among Uropathogens in Female Outpatients Affected by Uncomplicated Cystitis: Focus on Fosfomicin Trometamol. *International Journal of Antimicrobial Agents*. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2023.106974>
- E-B Kruse, A., Wisplinghoff, H., & del capítulo Michelle Doll, E. (2018). *GUÍA PARA EL CONTROL DE INFECCIONES ASOCIADAS A LA ATENCIÓN EN SALUD Enterobacterias resistentes a carbapenem*.
- Fang, H., Ataker, F., Hedin, G., & Dornbusch, K. (2008). Molecular epidemiology of extended-spectrum β -lactamases among Escherichia coli isolates collected in a Swedish hospital and its associated health care facilities from 2001 to 2006. *Journal of Clinical Microbiology*. <https://doi.org/10.1128/JCM.01943-07>
- García, H., Arévalo Valdez, M. ; Velásquez Porta, C. ; Herrera García, M., Arévalo Valdez, C., & Porta, T. V. (2019). Detección de los genes de β -lactamasas blaTEM, blaSHV y blaCTX-M en aislamientos de Escherichia coli comunitarios. *Periodicidad: Semestral*, 28(2).
- Güssow, D., & Clackson, T. (1989). Direct clone characterization from plaques and colonies by the polymerase chain reaction. In *Nucleic Acids Research*. <https://doi.org/10.1093/nar/17.10.4000>
- Herrera García, M., Arévalo Valdez, C., & Porta, T. V. (2019). Detección de los genes de β -lactamasas bla bla TEM , SHV y bla CTX-M aislamientos de Escherichia coli comunitarios. In *Revista Científica* (Vol. 28, Issue 2).
- Horcajada, J. P., & Fariñas, M. D. C. (2005). Involvement of bacterial resistances in community-acquired urinary infections. In *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. <https://doi.org/10.1157/13070400>
- Jacoby, G. A., & Munoz-Price, L. S. (2005). The New β -Lactamases. *New England Journal of Medicine*. <https://doi.org/10.1056/nejmra041359>
- Jena, J., Sahoo, R. K., Debata, N. K., & Subudhi, E. (2017). Prevalence of TEM, SHV, and CTX-M genes of extended-spectrum β -lactamase-producing Escherichia coli strains isolated from urinary tract infections in adults. *3 Biotech*, 7(4). <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0879-2>
- Lewis, J. S. . (2024). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*. Clinical and Laboratory Standards Institute.

- Miranda García, M. C. (2013). *Escherichia coli* portador de betalactamasas de espectro extendido: resistencia. *Sanidad Militar*. <https://doi.org/10.4321/s1887-85712013000400003>
- Rodríguez-Baño, J., Gutiérrez-Gutiérrez, B., Machuca, I., & Pascual, A. (2018). Treatment of infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-, ampC-, and carbapenemase-producing enterobacteriaceae. In *Clinical Microbiology Reviews*. <https://doi.org/10.1128/CMR.00079-17>
- Solís, M. B., Romo, S., Granja, M., Sarasti, J. J., Paz y Miño, A., & Zurita, J. (2022). Infección comunitaria del tracto urinario por *Escherichia coli* en la era de resistencia antibiótica en Ecuador. *Metro Ciencia*. <https://doi.org/10.47464/metrociencia/vol30/1/2022/37-48>
- Truppia, L. A., Mollerach, A., Di Conza, J. A., Radice, M., Mugna, V., Méndez, E., & Gutkind, G. O. (2005). Comparación de tres métodos microbiológicos para la detección de betalactamasas de espectro extendido en enterobacterias aisladas en Santa Fe (Argentina). *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. <https://doi.org/10.1157/13080271>
- Ur Rahman, S., Ali, T., Ali, I., Khan, N. A., Han, B., & Gao, J. (2018). The Growing Genetic and Functional Diversity of Extended Spectrum Beta-Lactamases. In *BioMed Research International*. <https://doi.org/10.1155/2018/9519718>
- Verma, S., Kalyan, R. K., Gupta, P., Khan, M. D., & Venkatesh, V. (2023). Molecular Characterization of Extended Spectrum β -Lactamase Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Isolates and Their Antibiotic Resistance Profile in Health Care-Associated Urinary Tract Infections in North India. *Journal of Laboratory Physicians*. <https://doi.org/10.1055/s-0042-1757416>
- Wirth, T., Falush, D., Lan, R., Colles, F., Mensa, P., Wieler, L. H., Karch, H., Reeves, P. R., Maiden, M. C. J., Ochman, H., & Achtman, M. (2006). Sex and virulence in *Escherichia coli*: An evolutionary perspective. *Molecular Microbiology*, *60*, 1136–1151. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05172.x>
- Yábar, M. N., Curi-Pesantes, B., Torres Pérez-Iglesias, C. A., Calderón-Anyosa, R., Riveros, M., & Ochoa, T. J. (2017). Multiresistance and factors associated with the presence of extended-spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* strains isolated from urine culture. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2017.344.2922>