

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales

Comparación de la prevalencia de familias de β -lactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* aisladas de urocultivos de pacientes ambulatorios con infecciones del tracto urinario en Quito, Ecuador: análisis de dos periodos (2014 y 2024).

Enrique Alberto Morán Villamar

Biología

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito
para la obtención del título de
Biólogo

Quito, 9 de mayo de 2025

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales

HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA

Comparación de la prevalencia de familias de β -lactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* aisladas de urocultivos de pacientes ambulatorios con infecciones del tracto urinario en Quito, Ecuador: análisis de dos periodos (2014 y 2024).

Enrique Alberto Morán Villamar

Nombre del profesor, Título académico

Ana Cristina Chávez Msc.

Quito, 9 de mayo de 2025

© 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: Enrique Alberto Morán Villamar

Código: 00217099

Cédula de identidad: 0925681058

Lugar y fecha: Quito, 9 de mayo de 2025

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UNPUBLISHED DOCUMENT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

La propagación de cepas de *Escherichia coli* productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) representa una amenaza creciente para el tratamiento efectivo de infecciones urinarias, especialmente en contextos ambulatorios donde el acceso a diagnósticos y tratamientos oportunos es limitado. El presente estudio tuvo como objetivo comparar la prevalencia y distribución de genes codificadores de BLEE en cepas de *E. coli* aisladas de urocultivos positivos durante los años 2014 y 2024 en Quito, Ecuador, a fin de identificar patrones de resistencia y su evolución a lo largo del tiempo.

Se analizaron 145 cepas de 2014 y 120 cepas de 2024 mediante técnicas moleculares para la detección de los genes *bla*CTX-M, *bla*SHV, *bla*TEM y *bla*OXA. Los resultados mostraron que la proporción de cepas BLEE positivas aumentó ligeramente de 18.5% a 20.1% en ese periodo. Además, se observó un incremento significativo en la prevalencia de los genes *bla*OXA y *bla*SHV en 2024, así como un cambio en las combinaciones más frecuentes, siendo la coexistencia de *bla*CTX-M + *bla*TEM + *bla*OXA la más común en ese año.

Se registraron altas tasas de resistencia a cefalosporinas y otras familias de antibióticos, con excepción de la nitrofurantoína, la cual mostró una resistencia notablemente baja (1.37%) en 2024, lo que refuerza su valor como opción terapéutica en infecciones no complicadas. Estos hallazgos subrayan la importancia de mantener sistemas de vigilancia epidemiológica en el ámbito comunitario, así como de promover políticas de uso racional de antibióticos. Futuras investigaciones deberían incluir variables clínicas y demográficas para comprender mejor los factores asociados a la resistencia.

Palabras clave: *Escherichia coli*, BLEE, β -lactamasas, resistencia antimicrobiana, genes de resistencia, urocultivos, antibióticos, nitrofurantoína, *bla*CTX-M, *bla*SHV, *bla*TEM y *bla*OXA.

ABSTRACT

The spread of *Escherichia coli* strains producing extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) poses an increasing threat to the effective treatment of urinary tract infections, especially in outpatient settings where access to timely diagnosis and treatment may be limited. This study aimed to compare the prevalence and distribution of ESBL-encoding genes in *E. coli* strains isolated from positive urine cultures collected in 2014 and 2024 in Quito, Ecuador, in order to identify resistance patterns and their evolution over time.

A total of 145 strains from 2014 and 120 strains from 2024 were analyzed using molecular techniques to detect the presence of *bla*CTX-M, *bla*SHV, *bla*TEM y *bla*OXA genes. The results showed a slight increase in the proportion of ESBL-positive strains, from 18.5% to 20.1% over the study period. Additionally, there was a notable rise in the prevalence of *bla*OXA and *bla*SHV genes in 2024, as well as a shift in the most frequent combinations of resistance genes, with *bla*CTX-M + *bla*TEM + *bla*OXA becoming the most common in that year.

High resistance rates to cephalosporins and other antibiotic families were observed, except for nitrofurantoin, which showed a remarkably low resistance rate (1.37%) in 2024 highlighting its continued value as a therapeutic option for uncomplicated infections. These findings underscore the need to strengthen community-based epidemiological surveillance and promote policies for the rational use of antibiotics. Future studies should consider incorporating clinical and demographic variables to better understand the factors associated with antimicrobial resistance.

Key words: *Escherichia coli*, ESBL, β -lactamases, antimicrobial resistance, resistance genes, urine culture, antibiotics, nitrofurantoin, *bla*CTX-M, *bla*SHV, *bla*TEM y *bla*OXA.

TABLA DE CONTENIDO

Introducción.....	10
Metodología.....	14
Permiso del comité de bioética.....	14
Extracción de ADN por kit.....	14
Multiplex para identificar familias de BLEE	14
Análisis estadístico comparativo de resistencia antimicrobiana entre ceparios	15
Análisis Estadístico de la Presencia y Coexistencia de Genes de Resistencia en <i>E. coli</i> BLEE (2014 y 2024)	16
Prevalencia de BLEE en <i>Escherichia coli</i> 2014 y 2024.....	18
Análisis estadístico de resistencia a antibióticos entre ceparios.....	19
Comparación de resistencia por antibiótico entre los ceparios del 2014 y 2024.....	19
Heatmap de la proporción (%) de resistencia antimicrobiana en los años 2014 y 2024	20
Prevalencia de familias de β -lactamasas en <i>Escherichia coli</i> BLEE entre los años 2014 y 2024	21
Comparación del número de genes de resistencia por muestra en <i>E. coli</i> BLEE entre los años 2014 y 2024.....	22
Coexistencia de combinaciones específicas de genes de β -lactamasas en <i>E. coli</i> BLEE entre 2014 y 2024	23
Discusión	25
Prevalencia de BLEE en <i>Escherichia coli</i> 2014 y 2024.....	25
Resistencia antimicrobiana entre ceparios 2014 y 2024.....	26
Coexistencias de familias de BLEE	27
Conclusiones.....	30
Referencias bibliográficas	32

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Primers utilizados para la detección de genes de BLEE en la PCR multiplex.....	15
Tabla 2. Comparación del porcentaje de resistencias antimicrobianas de <i>Escherichia coli</i> entre los ceparios del 2014 (n= 145) y 2024 (n= 120). Resultados de la prueba Chi – cuadrado. Los valores $p < 0,05$ indican diferencias significativas.	19

LISTA DE FIGURAS

- Fig. 1. Total, de muestras de *E. coli* BLEE positivas obtenidas durante los periodos mayo 2014 a mayo del 2015 y abril del 2023 a abril del 2024. 18
- Fig. 2. Comparación proporcional de la resistencia antimicrobiana (S: Sensible, I: Intermedio y R: Resistente) en *Escherichia coli* frente a diferentes antibióticos entre los ceparios de los años 2014 y 2024. 20
- Fig. 3. Mapa de calor (heatmap) representando el porcentaje (%) de cepas resistentes (R) a distintos antibióticos en ceparios de *Escherichia coli* comparando los años 2014 y 2024. 21
- Fig. 4. Prevalencia de familias de β -lactamasas por año en *Escherichia coli*. Se observa que bla_{TEM} y bla_{CTX-M} son las familias más prevalentes en ambos años, mientras que bla_{SHV} presenta la menor frecuencia, en ambos años, con un aumento en el 2024. 22
- Fig. 5. Comparación del número de coexistencias de genes de resistencia por muestra y por año en *Escherichia coli*. La mayoría de las muestras presentaron dos o tres genes de resistencia en ambos años, lo que sugiere una alta frecuencia de coexistencia. 23
- Fig. 6. Frecuencia de combinaciones de genes de resistencia por año en ambos ceparios de *Escherichia coli*. La combinación más frecuente fue $bla_{CTX-M} + bla_{TEM}$ en el 2014, mientras que $bla_{CTX-M} + bla_{OXA} + bla_{TEM}$ fue la combinación más frecuente en el 2024, otras combinaciones se presentaron con menor frecuencia. 24

INTRODUCCIÓN

La resistencia bacteriana a los antibióticos representa uno de los mayores desafíos en la salud pública mundial. En particular, los bacilos Gram negativos han desarrollado múltiples mecanismos de resistencia que comprometen la eficacia de los tratamientos antibióticos tradicionales. Entre estos mecanismos se encuentran la alteración de las proteínas fijadoras de penicilina (PBP), la disminución de la permeabilidad de la membrana debido a mutaciones en porinas y la activación de bombas de eflujo que expulsan los antibióticos antes de que puedan ejercer su efecto bactericida (Miranda García, 2013). Sin embargo, el mecanismo de resistencia más desarrollado por parte de las Enterobacterias es la producción de β -lactamasas, enzimas que inactivan los antibióticos pertenecientes al grupo de los β -lactámicos mediante la hidrólisis del anillo β -lactámico, impidiendo así su acción sobre la pared celular bacteriana (Jacoby & Munoz-Price, 2005).

En este contexto, es esencial comprender la clasificación de las β -lactamasas en enterobacterias, las cuales se dividen en cuatro clases según Ambler: A, C y D, que utilizan serina en su sitio activo, y B, que depende de iones de zinc (de Souza et al., 2024). Las BLEE, pertenecientes principalmente a la clase A, incluyen enzimas como *bla*CTX-M, *bla*SHV, *bla*TEM, mientras que las *bla*OXA, de clase D, han surgido como un desafío adicional debido a su capacidad para inactivar carbapenémicos (Jacoby & Munoz-Price, 2005).

Dentro del grupo de β -lactamasas, las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) han cobrado especial relevancia debido a su capacidad para inactivar oxiiminocefalosporinas y el monobactámico aztreonam, lo que limita significativamente las opciones terapéuticas disponibles (Miranda García, 2013). Estas enzimas son codificadas por genes de las familias *bla*TEM, *bla*SHV, aunque en los últimos años se ha observado un incremento en la prevalencia de la familia *bla*CTX-M, que ha desplazado a los otros tipos en diversas regiones del mundo

(Jacoby & Munoz-Price, 2005). Además de estas familias de BLEE, se ha documentado la creciente presencia de β -lactamasas codificadas por genes de la familia *bla*OXA, pertenecientes a la clase D de la clasificación de Ambler. Estas enzimas han sido tradicionalmente asociadas con la resistencia a carbapenémicos en *Acinetobacter baumannii*, pero su aparición en enterobacterias como *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* ha generado una preocupación creciente en el ámbito clínico. En Argentina, por ejemplo, se han identificado *bla*OXA, junto con *bla*CTX-M, en enterobacterias resistentes a cefalosporinas de tercera generación (Trupia et al., 2005). La transmisión de BLEE ocurre principalmente a través de plásmidos y otros elementos genéticos móviles, lo que facilita su propagación entre diferentes especies bacterianas en ambientes hospitalarios y comunitarios, contribuyendo así al aumento de infecciones difíciles de tratar (de Souza et al., 2024; Paredes et al., 2023).

El impacto de las BLEE en la clínica es particularmente evidente cuando se habla de infecciones del tracto urinario (ITU), donde *Escherichia coli* es el principal agente etiológico. Se ha reportado que hasta un 18.4% de los aislamientos de *E. coli* en infecciones comunitarias del tracto urinario en Ecuador presentan genes codificadores de BLEE, lo que evidencia la magnitud del problema en el país (Solís et al., 2022). La presencia de estos patógenos resistentes no solo incrementa la morbilidad y mortalidad asociadas a infecciones urinarias, sino que también complica el manejo clínico al reducir la eficacia de los antibióticos comúnmente empleados, como cefalosporinas y fluoroquinolonas (Blanco et al., 2016).

Este problema ha sido reconocido por entidades internacionales como la OMS y la PAHO, que han resaltado el incremento alarmante de la resistencia bacteriana en enterobacterias, especialmente en América Latina, donde *E. coli* BLEE ha mostrado tasas de resistencia superiores al 30% en infecciones comunitarias (Paredes et al., 2023). Este panorama ha llevado

a clasificar a las enterobacterias resistentes como una prioridad crítica para el desarrollo de nuevos antibióticos (World Health Organization, 2021).

La detección de BLEE en el laboratorio clínico es crucial para el adecuado manejo de los pacientes y para la vigilancia epidemiológica de la resistencia antibiótica. Entre los métodos más utilizados en laboratorios se encuentran la prueba del doble disco, que permite detectar la actividad de las BLEE mediante la comparación del diámetro del halo de inhibición entre un disco de cefalosporina y otro que contiene la misma cefalosporina más ácido clavulánico, así como las pruebas moleculares, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y posterior electroforesis, que identifican la presencia de genes específicos de resistencia (Truppia et al., 2005). La implementación de estos métodos en laboratorios clínicos resulta fundamental para establecer estrategias de tratamiento efectivas y evitar el uso indiscriminado de antibióticos, que contribuye aún más a la propagación de cepas resistentes.

Las BLEE inactivan β -lactámicos como penicilinas, cefalosporinas de tercera generación (cefotaxima, ceftazidima) y aztreonam. Las alternativas de tratamiento incluyen carbapenémicos como meropenem, aunque su uso excesivo ha llevado al desarrollo de carbapenemasas. Otras opciones incluyen fosfomicina y tigeciclina, que han mostrado eficacia en infecciones por BLEE (de Souza et al., 2024; Paredes et al., 2023). Además, los aislamientos de *E. coli* BLEE frecuentemente presentan resistencia a otros grupos de antibióticos, como fluoroquinolonas (ciprofloxacino), aminoglucósidos (gentamicina) y trimetoprima/sulfametoxazol, lo que complica aún más el tratamiento de las infecciones (de Souza et al., 2024).

En este estudio se busca comparar la prevalencia de las familias de BLEE en *Escherichia coli* en dos años diferentes. Para ello, se compararán dos ceparios de *E. coli* obtenidos de urocultivos de pacientes ambulatorios: uno correspondiente al año 2014 y otro al 2024. Esta

comparación permitirá evaluar los cambios en la prevalencia de genes de resistencia, incluyendo *bla*CTX-M, *bla*SHV, *bla*TEM y *bla*OXA, así como la efectividad de los antibióticos comúnmente utilizados para tratar infecciones urinarias. Se espera identificar tendencias en la resistencia de *E. coli* a distintos antibióticos, así como determinar si ciertas familias de BLEE han aumentado su prevalencia en la última década (Solís et al., 2022).

Dado el impacto clínico y epidemiológico de las BLEE en infecciones del tracto urinario y su creciente prevalencia en Ecuador, es necesario profundizar en su caracterización y en la implementación de estrategias para su detección y control. En este estudio, se abordarán los principales mecanismos de resistencia del bacilo Gram negativo modelo, *Escherichia coli*, con un enfoque en la producción de BLEE y su impacto en la vigilancia epidemiológica de infecciones urinarias adquiridas en pacientes ambulatorios. A continuación, se describirán los métodos empleados en la investigación para el análisis de la prevalencia y caracterización molecular de estas enzimas, con el fin de contribuir a un mejor entendimiento del problema y a la formulación de estrategias de control y tratamiento más eficaces.

METODOLOGÍA

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.

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 el Elution buffer del kit como blanco.

Multiplex para identificar familias de BLEE

Se empleó la técnica de PCR múltiple descrita por (Fang et al., 2008) para ambos ceparios 2014 (n = 145), y 2024 (n = 120) con algunas adaptaciones: la reacción se separó en dos PCR multiplex independientes, una destinada a la identificación de los genes *bla*TEM y *bla*OXA, y otra para amplificar los genes *bla*CTX-M, *bla*SHV. Este ajuste permitió obtener una mejor resolución de los productos amplificados y favoreció una mayor especificidad en la detección de estos genes de resistencia en las cepas estudiadas de *Escherichia coli*. Para llevar a cabo esta metodología, se utilizaron los siguientes cebadores a una concentración de 0,2 µl por muestra:

Tabla 1. Primers utilizados para la detección de genes de BLEE en la PCR multiplex

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

Las condiciones del proceso de amplificación fueron las siguientes: una desnaturalización inicial a 95 °C con duración de 15 minutos, seguida por 30 ciclos consistentes en una desnaturalización a 94 °C por 30 segundos, alineamiento a 57 °C por 1 minuto y 30 segundos, y una etapa de extensión a 72 °C durante 1 minuto. Finalmente, se realizó una extensión adicional a 72 °C durante 10 minutos. Los productos generados mediante PCR se visualizaron utilizando geles de agarosa al 1%, aplicando un voltaje de 80V durante 60 minutos.

Análisis estadístico comparativo de resistencia antimicrobiana entre ceparios

Se empleó un análisis estadístico para comparar la resistencia a diferentes antibióticos entre los ceparios de los años 2014 (n = 145) y 2024 (n = 120) utilizando el software estadístico R (versión 4.3.1). Inicialmente, los datos de resistencia fueron organizados en una matriz que incluyó la interpretación categórica de resistencia (R), sensibilidad (S) e intermedia (I) para cada antibiótico estudiado. Posteriormente, los datos se transformaron al formato largo para facilitar los análisis comparativos. Para evaluar si existían diferencias estadísticamente significativas en la resistencia entre ambos años, se realizó una prueba de Chi-cuadrado

independiente para cada antibiótico. Además, con el fin de visualizar la distribución proporcional de resistencia, sensibilidad e intermedia por antibiótico y por año, se construyeron gráficos de barras apiladas utilizando la librería ggplot2. Finalmente, se elaboró un mapa de calor (heatmap) mediante la librería pheatmap, con la finalidad de mostrar de manera visual los cambios en el porcentaje de cepas resistentes entre los dos períodos analizados, lo cual facilitó una rápida identificación de los antibióticos con variaciones notables en su perfil de resistencia.

Análisis Estadístico de la Presencia y Coexistencia de Genes de Resistencia en *E. coli* BLEE (2014 y 2024)

Se realizaron análisis estadísticos no paramétricos para evaluar la presencia y coexistencia de genes de resistencia a β -lactámicos en aislamientos de *Escherichia coli* productoras de BLEE, correspondientes a los ceparios del año 2014 ($n = 145$) y del año 2024 ($n = 121$). En primer lugar, se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk para comprobar la normalidad de los datos y la prueba de Levene para evaluar la homogeneidad de varianzas. Dado que los datos no cumplían con los supuestos necesarios para realizar pruebas paramétricas, se optó por emplear métodos no paramétricos, recomendados para estudios biomédicos con distribuciones no normales o muestras pequeñas (Molina, 2023).

Para comparar la distribución del número total de genes de resistencia entre ambos años se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis, seguida de la prueba de Wilcoxon-Mann-Whitney con corrección de Bonferroni para comparaciones por pares (Kühnast & Neuhäuser, 2008). Estos análisis permitieron establecer si existían diferencias estadísticamente significativas entre los grupos evaluados. Adicionalmente, se calcularon frecuencias relativas y porcentajes para la presencia individual de cada familia de β -lactamasas (*bla*CTX-M, *bla*SHV, *bla*OXA y *bla*TEM), así como para las distintas combinaciones coexistentes de estos genes en una misma muestra.

Los resultados fueron representados gráficamente a través de comparaciones visuales de la prevalencia de cada familia de β -lactamasas, el número de genes presentes por muestra (coexistencia) y las combinaciones específicas de genes detectadas, organizadas según su nivel de complejidad genética (de uno a cuatro genes). Estos procedimientos estadísticos permitieron identificar variaciones significativas en los patrones de resistencia genética entre ambos periodos, indicando un incremento en la diversidad y multirresistencia de los aislamientos en el año 2024.

Resultados

Prevalencia de BLEE en *Escherichia coli* 2014 y 2024

Durante el periodo mayo del 2014 a mayo del 2015 se analizaron 1016 urocultivos de los cuales 188 fueron E.coli BLEE positivos, que se obtuvieron de pacientes ambulatorios, las cuales representan el 18.5% del total de los aislados recolectados en este periodo. De este universo se lograron recuperar 145 cepas, con los cuales se realizaron los estudios de la presente tesis. Por otro lado, durante el periodo abril 2023 a abril 2024, se obtuvo 603 urocultivos positivos para ITU y E.coli también obtenidas de pacientes ambulatorios, de las cuales se identificaron 121 cepas de E. coli productoras de BLEE, las cuales representan el 20.1% del total de cepas aisladas en este periodo.

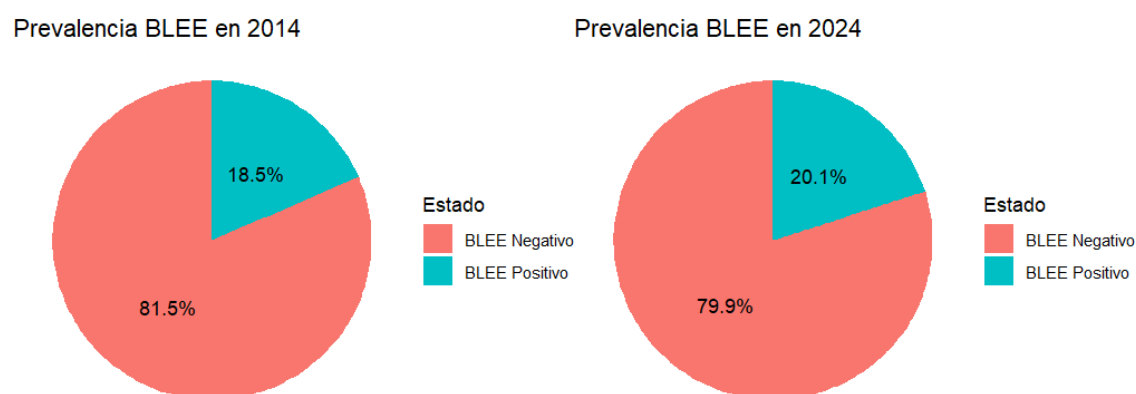


Fig. 1. Total, de muestras de *E. coli* BLEE positivas obtenidas durante los periodos mayo 2014 a mayo del 2015 y abril del 2023 a abril del 2024.

Análisis estadístico de resistencia a antibióticos entre ceparios

Se presentan los valores obtenidos del análisis estadístico de Chi-cuadrado, empleado para determinar si existieron diferencias significativas en la resistencia a cada antibiótico entre los ceparios de *Escherichia coli* de 2014 y 2024. Los valores resaltados ($p < 0,05$) indican diferencias estadísticamente significativas en la resistencia antimicrobiana entre ambos períodos estudiados, además se incluyen las resistencias en porcentajes, de cada antibiótico para cada año.

Tabla 2. Comparación del porcentaje de resistencias antimicrobianas de *Escherichia coli* entre los ceparios del 2014 (n= 145) y 2024 (n= 120). Resultados de la prueba Chi – cuadrado. Los valores $p < 0,05$ indican diferencias significativas.

Antibióticos	Valores de Resistencia (%) Cepario 2014	Valores de Resistencia (%) Cepario 2024	P value
Nitrofurantoína	13.79%	0.83%	0.00014
Trimetoprim + Sulfametoxazole	85.31%	78.33%	0.093
Ciprofloxacina	88.97%	82.50%	0.196
Imipenem	1.39%	0.00%	0.392
Fosfomicina	21.38%	25.00%	0.773

Comparación de resistencia por antibiótico entre los ceparios del 2014 y 2024

Se presenta la distribución proporcional de la resistencia antimicrobiana categorizada como resistente (R), sensible (S) e intermedia (I), en cada uno de los antibióticos evaluados para los ceparios de *Escherichia coli* en 2014 y 2024. La gráfica permite observar visualmente cambios en los patrones de resistencia entre ambos períodos.

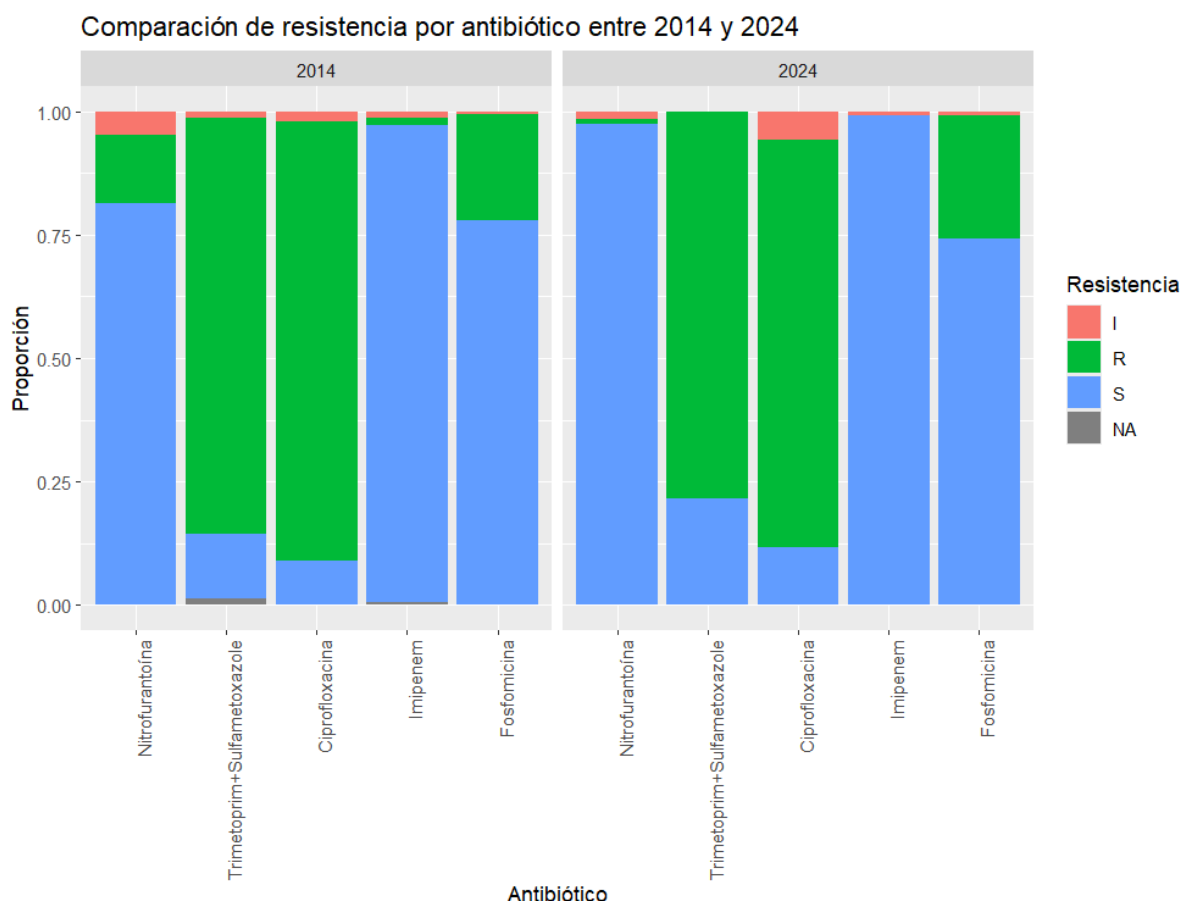


Fig. 2. Comparación proporcional de la resistencia antimicrobiana (S: Sensible, I: Intermedio y R: Resistente) en *Escherichia coli* frente a diferentes antibióticos entre los ceparios de los años 2014 y 2024.

Heatmap de la proporción (%) de resistencia antimicrobiana en los años 2014 y 2024

Se muestra un mapa de calor (heatmap) que representa el porcentaje de cepas de *Escherichia coli* resistentes (R) a cada uno de los antibióticos evaluados, comparando directamente los ceparios de los años 2014 y 2024. Los colores indican el grado de resistencia, siendo rojo alta resistencia y blanco baja resistencia, facilitando la identificación rápida de los cambios más notorios entre ambos años.

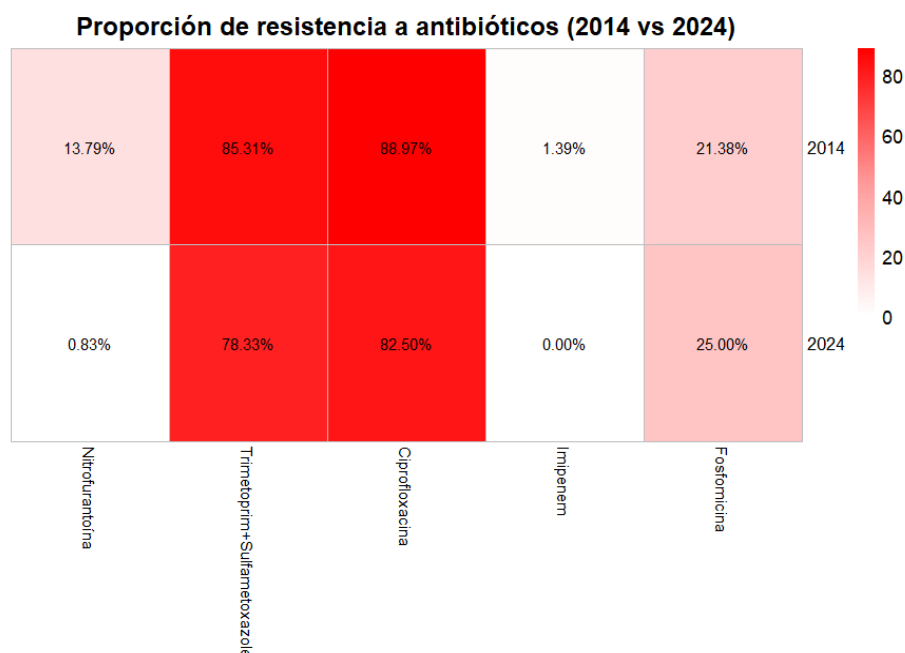


Fig. 3. Mapa de calor (heatmap) representando el porcentaje (%) de cepas resistentes (R) a distintos antibióticos en ceparios de *Escherichia coli* comparando los años 2014 y 2024.

Prevalencia de familias de β -lactamasas en *Escherichia coli* BLEE entre los años 2014 y 2024

Se analizaron 145 muestras de *Escherichia coli* productoras de BLEE del año 2014 y 121 muestras del año 2024 para determinar la presencia de genes de resistencia a β -lactámicos. En 2014, la familia de β -lactamasas más prevalente fue *bla*TEM (95.9%), seguida por *bla*CTX-M (91.7%), *bla*OXA (34.5%) y *bla*SHV (2.1%). En contraste, en 2024 se observó una ligera disminución en *bla*TEM (93.3%) y *bla*CTX-M (84.2%), mientras que la prevalencia de *bla*OXA (65.8%) y *bla*SHV (13.3%) aumentó notablemente. Estos resultados sugieren una modificación en la distribución de familias de β -lactamasas a lo largo del tiempo, posiblemente relacionada con presiones selectivas distintas en ambos periodos.

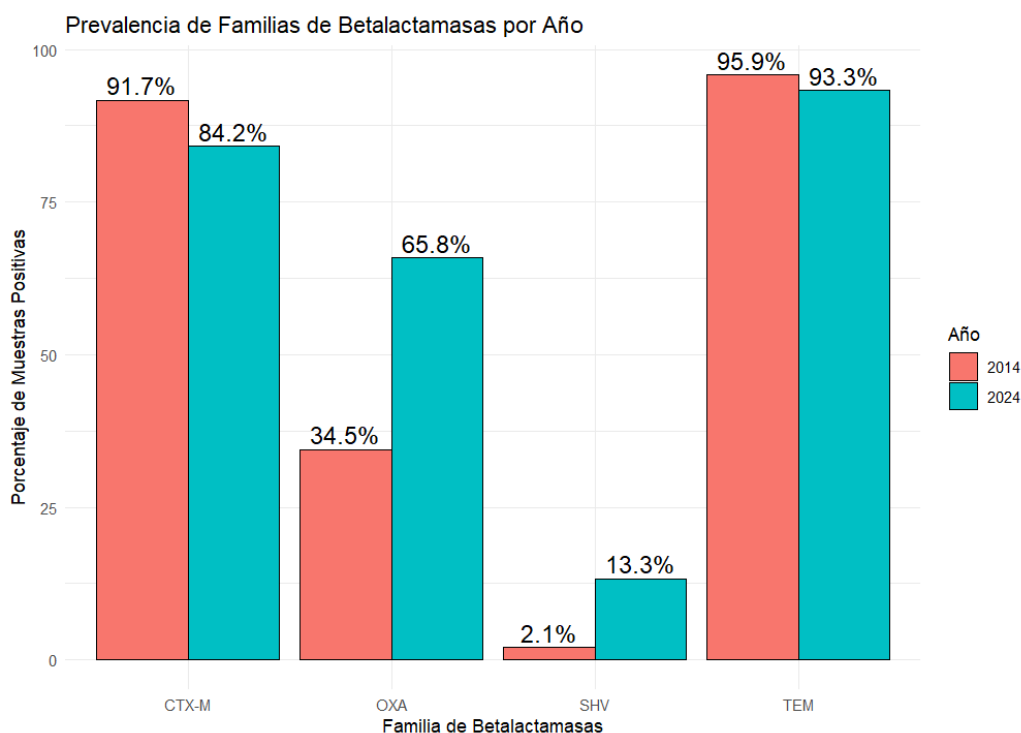


Fig. 4. Prevalencia de familias de β -lactamasas por año en *Escherichia coli*. Se observa que bla^{TEM} y bla^{CTX-M} son las familias más prevalentes en ambos años, mientras que bla^{SHV} presenta la menor frecuencia, en ambos años, con un aumento en el 2024.

Comparación del número de genes de resistencia por muestra en *E. coli* BLEE entre los años 2014 y 2024

Se evaluó la cantidad de genes de resistencia a β -lactámicos presentes por muestra en 145 aislamientos de 2014 y 121 aislamientos de 2024 de *Escherichia coli* BLEE. En 2014, la mayoría de las muestras presentó dos genes de resistencia (56%), seguidas por tres genes (33.8%) y un solo gen (9.7%). No se registraron muestras con los cuatro genes presentes simultáneamente. En 2024, el patrón cambió: la mayoría de las muestras presentó tres genes de resistencia (48.3%), seguida de dos genes (30.8%), un gen (10%) y un 10% con los cuatro genes a la vez. Estos cambios fueron estadísticamente significativos ($p < 0.001$), lo que sugiere un aumento en la complejidad genética y en la potencial multirresistencia de las cepas analizadas en 2024.

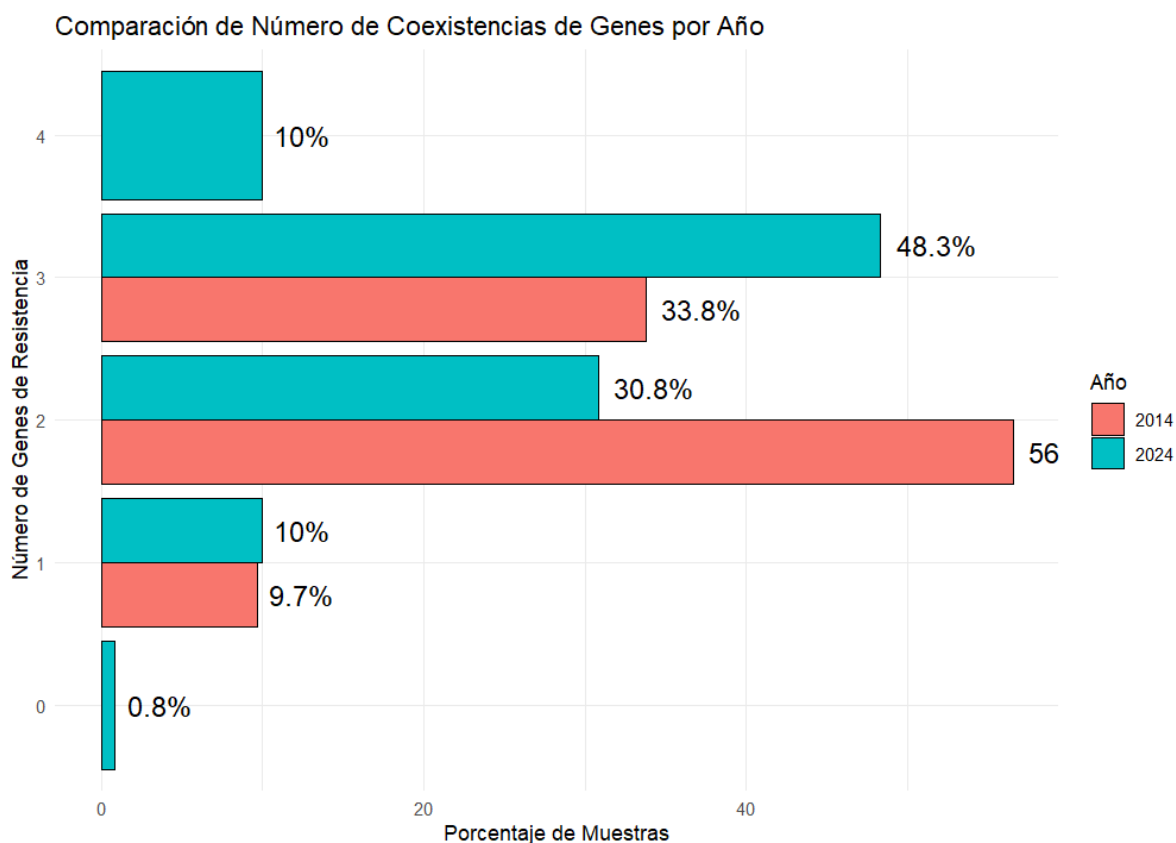


Fig. 5. Comparación del número de coexistencias de genes de resistencia por muestra y por año en *Escherichia coli*. La mayoría de las muestras presentaron dos o tres genes de resistencia en ambos años, lo que sugiere una alta frecuencia de coexistencia.

Coexistencia de combinaciones específicas de genes de β -lactamasas en *E. coli* BLEE entre 2014 y 2024

Se analizaron las combinaciones específicas de genes de β -lactamasas presentes en 145 muestras de 2014 y 121 muestras de 2024 de *Escherichia coli* BLEE. En 2014, la combinación más frecuente fue $bla_{CTX-M} + bla_{TEM}$ (53.8%), seguida de $bla_{CTX-M} + bla_{OXA} + bla_{TEM}$ (31.7%) y bla_{TEM} en solitario (7.6%). En 2024, la combinación más común fue $bla_{CTX-M} + bla_{OXA} + bla_{TEM}$ (46.2%), seguida de $bla_{CTX-M} + bla_{TEM}$ (20.2%) y $bla_{OXA} + bla_{TEM}$ (10.1%). También se detectaron combinaciones más complejas como $bla_{CTX-M} + bla_{SHV} + bla_{OXA} + bla_{TEM}$, reflejando un aumento en la diversidad genética. Estos resultados evidencian

un cambio en los patrones de coexistencia de genes de resistencia a β -lactámicos, con mayor presencia de combinaciones múltiples en 2024.

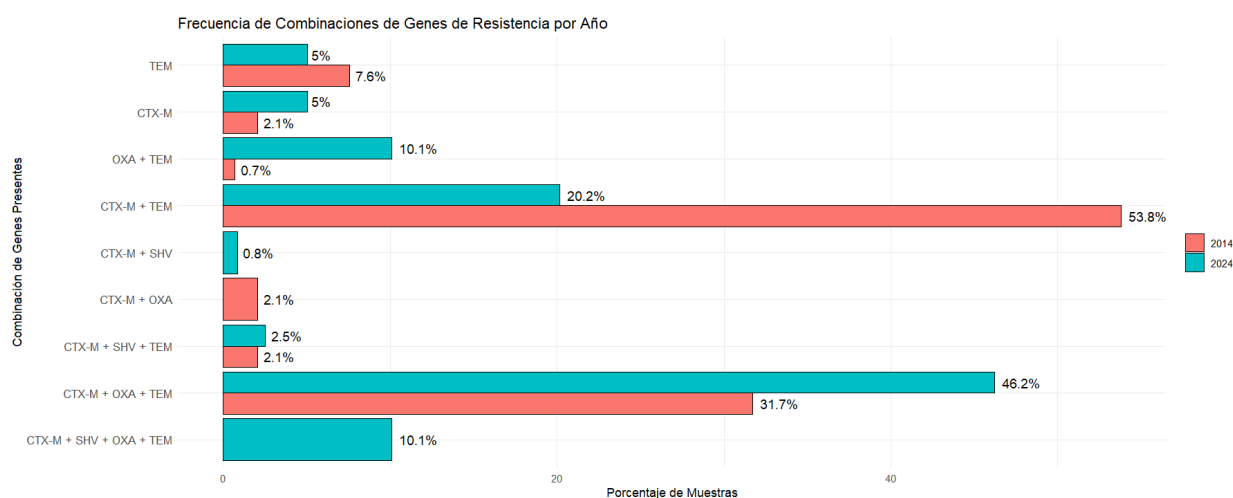


Fig. 6. Frecuencia de combinaciones de genes de resistencia por año en ambos ceparios de *Escherichia coli*. La combinación más frecuente fue $\text{bla}_{\text{CTX-M}} + \text{bla}_{\text{TEM}}$ en el 2014, mientras que $\text{bla}_{\text{CTX-M}} + \text{bla}_{\text{OXA}} + \text{bla}_{\text{TEM}}$ fue la combinación más frecuente en el 2024, otras combinaciones se presentaron con menor frecuencia.

DISCUSIÓN

Prevalencia de BLEE en *Escherichia coli* 2014 y 2024

Al comparar la proporción de cepas productoras de BLEE respecto al total de muestras analizadas en ambos periodos, se observa un leve incremento entre 2014 y 2024, pasando del 18.5% al 20.1% Fig. 1. Aunque esta diferencia porcentual no es abrupta, sugiere una persistencia e incluso una ligera expansión de cepas resistentes en la comunidad a lo largo de la última década. Esta tendencia ha sido descrita en otros entornos de América Latina, donde las tasas de BLEE han mostrado incrementos sostenidos debido a múltiples factores, entre ellos el uso inadecuado de antibióticos, la falta de control en la dispensación de medicamentos y la transmisión comunitaria de cepas multirresistentes. En el estudio de (Yábar et al., 2017), por ejemplo, se reportó que más del 28% de las cepas de *E. coli* aisladas en urocultivos presentaban fenotipo BLEE, incluso en pacientes ambulatorios. Este hallazgo resalta que las infecciones urinarias causadas por bacterias productoras de BLEE ya no están restringidas a contextos hospitalarios, sino que se están convirtiendo en un problema clínico en la atención primaria.

Por otra parte, investigaciones como la de (Blanco et al., 2016) identificaron que los cuadros clínicos considerados complicados como pielonefritis, malformaciones genitourinarias o antecedentes de hospitalización están fuertemente asociados a la presencia de BLEE. Dado que el presente estudio no incluyó variables clínicas específicas por limitaciones bioéticas, no se puede descartar que en 2024 haya existido una mayor proporción de muestras provenientes de este tipo de infecciones, lo cual contribuiría a explicar el leve aumento observado. Además, (Solís et al., 2022) mostraron que los errores en la recolección de orina y el procesamiento de muestras también pueden incidir en los resultados obtenidos, al generar sesgos hacia ciertas categorías bacterianas. En ese sentido, aunque el cambio de 1.6 puntos porcentuales en la prevalencia de BLEE no representa una alerta epidemiológica inmediata, sí pone en evidencia

que las cepas resistentes continúan circulando activamente, y que las medidas de prevención y vigilancia deben mantenerse actualizadas para evitar que esta tendencia se consolide con mayor fuerza en el futuro.

Resistencia antimicrobiana entre ceparios 2014 y 2024

En el presente estudio se observaron variaciones importantes en la resistencia a antibióticos entre los años 2014 y 2024, tanto a nivel fenotípico como genético. Uno de los hallazgos más llamativos fue la baja prevalencia de resistencia a la nitrofurantoína (1.37%) Fig. 3, observada en el año 2024 en las cepas de *Escherichia coli* analizadas. Este fenómeno puede explicarse por diversos factores terapéuticos y microbiológicos descritos en la literatura científica. La nitrofurantoína ha sido recomendada como terapia de primera línea para el tratamiento de cistitis aguda no complicada en mujeres premenopáusicas, según múltiples guías clínicas, debido a su alta efectividad clínica (84%-86%) y microbiológica (hasta 86%), similar a la de otros antibióticos como el trimetoprim-sulfametoxazol y la ciprofloxacina, pero con menores efectos adversos y sin diferencias estadísticamente significativas en los estudios comparativos (Gardiner et al., 2019; Langner et al., 2021). Su eficacia persistente a lo largo del tiempo se debe, en parte, a su perfil farmacocinético: se concentra en el tracto urinario inferior, mantiene una baja concentración en suero y no afecta significativamente a la microbiota intestinal, lo que reduce la presión selectiva sobre otras bacterias comensales (Squadrito & del Portal, 2023). Además, se ha reportado que la resistencia a la nitrofurantoína se mantiene en niveles bajos en aislamientos clínicos de *E. coli* en Colombia y América Latina, con tasas de susceptibilidad superiores al 94%. Esto puede estar relacionado con su uso limitado a infecciones del tracto urinario bajo y con esquemas terapéuticos cortos (5 días), lo que reduce el riesgo de desarrollar resistencia. También se recomienda su uso con precaución en pacientes mayores o con enfermedad renal, lo cual restringe aún más su uso indiscriminado. Por otra parte, la

nitrofurantoína se reserva exclusivamente para mujeres no embarazadas y premenopáusicas con infecciones urinarias no complicadas, excluyendo a mujeres posmenopáusicas, hombres y pacientes con anomalías urológicas, según las guías clínicas colombianas y españolas consultadas (Cortes et al., 2015; Víctor Carrero López et al., 2021). Dado que en el presente estudio no se pudo registrar el grupo etario ni el sexo de los pacientes debido a las limitaciones del consentimiento bioético, se recomienda que estudios futuros amplíen el alcance del permiso ético para incorporar estas variables, lo que permitiría evaluar si las características demográficas de los pacientes influyen en la evolución temporal de la resistencia a este antibiótico.

Coexistencias de familias de BLEE

Finalmente, al analizar la evolución de las combinaciones de genes de resistencia, se observó una transición destacada entre ambos periodos estudiados, con una mayor complejidad genética en los aislamientos recientes. En los resultados obtenidos para el año 2024, la combinación de genes de resistencia más prevalente fue *bla*CTX-M + *bla*OXA + *bla*TEM, presente en el 46.2% de los aislamientos, en contraste con el año 2014, donde la combinación dominante fue *bla*CTX-M + *bla*TEM con una frecuencia del 53.8% Fig. 6. Este cambio en la estructura genética de las cepas puede explicarse a partir de los mecanismos descritos por (Rajer et al., 2022) quienes demostraron que, bajo presión selectiva subinhibitoria por antibióticos, *E. coli* puede evolucionar hacia fenotipos altamente resistentes mediante la acumulación de múltiples genes β-lactamasa. En su estudio, se evidenció que la presencia simultánea de *bla*CTX-M-15, *bla*TEM-1 y *bla*OXA-1 en un solo plásmido confería resistencia significativa a antibióticos β-lactámicos y a sus combinaciones con inhibidores, como ampicilina, piperacilina, ceftazidima, ampicilina/sulbactam, piperacilina/tazobactam y ceftazidima/avibactam. La combinación de estos tres genes permite una mayor resistencia frente a β-lactámicos, incluyendo

cefalosporinas, monobactámicos y, en algunos casos, carbapenémicos, comprometiendo significativamente las opciones terapéuticas disponibles.

Las cepas que albergan esta triple combinación pueden además optimizar su crecimiento mediante mecanismos de compensación adaptativa, como amplificaciones del número de copias de los genes de resistencia (hasta 70 copias por gen) y mutaciones específicas en genes que afectan la permeabilidad y resistencia de la membrana, incluyendo *ompC*, *ompF*, *ompR*, *envZ*, *rfaC*, *rfaG*, *rclR*, *galU*, *bamA*, así como en proteínas fijadoras de penicilina como *ftsI*, *mrda* y *mrcA*. Estas adaptaciones permiten mantener múltiples mecanismos de resistencia sin comprometer la viabilidad bacteriana, facilitando su persistencia y expansión en la comunidad (Rajer et al., 2022).

Este patrón también encuentra respaldo en los hallazgos de (Bedenić & Meštrović, 2021), quienes documentan una expansión global del alelo *bla**CTX-M*-15, ampliamente distribuido en aislados urinarios clínicos y ambientales, especialmente en el linaje ST-131. En su revisión, se señala que la combinación de *bla**CTX-M* + *bla**OXA* + *bla**TEM* no solo está presente en infecciones hospitalarias, sino que también se ha vuelto frecuente en ITUs adquiridas en la comunidad. Además, se describe que estas cepas pueden producir biopelículas con un 53% de los aislados con producción débil a fuerte y albergar genes asociados a virulencia como fimbriae, cápsulas y genes de hemolisina, lo que podría contribuir a su éxito en ambientes ambulatorios. El aumento de cepas BLEE-positivas resistentes a múltiples clases de antibióticos en este contexto ha motivado la actualización de guías terapéuticas, recomendando antibióticos como la fosfomicina y la nitrofurantoína para el tratamiento empírico de ITUs no complicadas. Por tanto, la alta prevalencia de la combinación *bla**CTX-M* + *bla**OXA* + *bla**TEM* en los aislamientos del 2024 podría reflejar una ventaja adaptativa real en el ambiente clínico local, alineada con

presiones terapéuticas específicas, cambios en las prácticas de prescripción y la emergencia de clones altamente exitosos como ST-131.

CONCLUSIONES

Este trabajo permitió identificar y comparar la prevalencia de genes codificadores de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) en cepas de *Escherichia coli* obtenidas de urocultivos de pacientes ambulatorios con infecciones del tracto urinario durante los periodos 2014 y 2024 en Quito, Ecuador. A través del análisis molecular y estadístico, se evidenció un incremento en la complejidad genética de las cepas en 2024, acompañado de una mayor frecuencia de combinaciones múltiples de genes de resistencia, como *bla*CTX-M + *bla*OXA + *bla*TEM. Este hallazgo sugiere una evolución adaptativa de las bacterias frente a las presiones selectivas impuestas por el uso de antibióticos en la comunidad.

Asimismo, se observó un ligero aumento en la proporción de cepas BLEE positivas con respecto al total de muestras analizadas, pasando del 18.5% en 2014 al 20.1% en 2024. Aunque la diferencia no fue abrupta, estos resultados reflejan una circulación sostenida de cepas multirresistentes en el ámbito ambulatorio, lo cual coincide con las tendencias descritas en estudios recientes en América Latina. Este comportamiento epidemiológico refuerza la necesidad de mantener y fortalecer programas de vigilancia microbiológica, así como la regulación estricta del uso de antibióticos en todos los niveles del sistema de salud.

Entre los resultados más destacados se encuentra la baja prevalencia de resistencia a la nitrofurantoína, con tan solo el 1.37% de cepas resistentes en 2024. Este dato resalta la importancia de este antimicrobiano como alternativa terapéutica en infecciones urinarias no complicadas, especialmente en un contexto de creciente multirresistencia. No obstante, debido a las limitaciones bioéticas del presente estudio, no se pudo establecer si esta baja resistencia está influenciada por factores como el sexo o edad de los pacientes. En ese sentido, se

recomienda que investigaciones futuras amplíen el alcance de los permisos éticos para incluir variables demográficas que permitan un análisis más integral del perfil de resistencia.

A lo largo del desarrollo de esta investigación, fue posible afianzar conocimientos teóricos sobre mecanismos de resistencia bacteriana, técnicas de biología molecular y análisis estadístico aplicado a datos biomédicos. La experiencia adquirida resultó especialmente valiosa al integrar la información genética con implicaciones clínicas concretas, permitiendo no solo interpretar los datos obtenidos, sino también proponer recomendaciones relevantes para el manejo terapéutico y la formulación de políticas de salud pública.

Finalmente, se destaca la importancia de continuar con el monitoreo de la resistencia antimicrobiana en *E. coli* y otras enterobacterias mediante estudios multicéntricos que evalúen tanto la carga genética como las características fenotípicas de las cepas circulantes. Este tipo de investigaciones contribuirán a mejorar la toma de decisiones clínicas, reducir el uso inadecuado de antibióticos y mitigar el impacto de las infecciones causadas por bacterias multirresistentes en la comunidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bedenić, B., & Meštrović, T. (2021). Mechanisms of Resistance in Gram-Negative Urinary Pathogens: From Country-Specific Molecular Insights to Global Clinical Relevance. *Diagnostics*, 11(5), 800. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11050800>
- 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*, 34(9), 559–565. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2015.11.017>
- Cortes, J. A., Perdomo, D., Morales, R. A., Alvarez, C. A., Cuervo, S. I., Leal, A. L., Gómez, J. C., Reyes, P., Pinilla, A. E., Castellanos, E., & Donoso, W. (2015). Guía de práctica clínica sobre diagnóstico y tratamiento de infección de vías urinarias no complicada en mujeres adquirida en la comunidad. *Revista de La Facultad de Medicina*, 63(4), 565–581. <https://doi.org/10.15446/revfacmed.v63.n4.44185>
- de Souza, J., Vieira, A. Z., Santos, H. G. dos, & Faoro, H. (2024). Potential involvement of beta-lactamase homologous proteins in resistance to beta-lactam antibiotics in gram-negative bacteria of the ESKAPEE group. *BMC Genomics*, 25, 1–15. <https://doi.org/10.1186/s12864-024-10410-2>
- 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*, 46(2), 707–712. <https://doi.org/10.1128/JCM.01943-07>

- Gardiner, B. J., Stewardson, A. J., Abbott, I. J., & Peleg, A. Y. (2019). Nitrofurantoin and fosfomycin for resistant urinary tract infections: Old drugs for emerging problems. *Australian Prescriber*, 42(1), 14. <https://doi.org/10.18773/austprescr.2019.002>
- Jacoby, G. A., & Munoz-Price, L. S. (2005). The New [beta]-Lactamases. *The New England Journal of Medicine*, 352(4), 380–391.
- Kühnast, C., & Neuhäuser, M. (2008). A note on the use of the non-parametric Wilcoxon-Mann-Whitney test in the analysis of medical studies. *GMS German Medical Science*, 6, Doc02.
- Langner, J. L., Chiang, K. F., & Stafford, R. S. (2021). Current prescribing practices and guideline concordance for the treatment of uncomplicated urinary tract infections in women. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 225(3), 272.e1-272.e11. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2021.04.218>
- Miranda García, M. C. (2013). Escherichia coli portador de betalactamasas de espectro extendido: Resistencia. *Sanidad Militar*, 69(4), 244–248. <https://doi.org/10.4321/S1887-85712013000400003>
- Molina, M. (2023). Ciencias o letras: Prueba de la U de Mann-Whitney. *Revista Electrónica AnestesiaR*, 15(5), 1. <https://doi.org/10.30445/rear.v15i5.1136>
- Paredes, R., Damme, M., Mantilla, J., Castellanos, L. R., Clavijo, V., Celis, Y., Mehta, K., Kumar, A., Patiño, A., & Jeyashree, K. (2023). Prevalence and antimicrobial resistance of Escherichia coli and Salmonella spp. In animal feed in Colombia. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 47, 1. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2023.57>
- Rajer, F., Allander, L., Karlsson, P. A., & Sandegren, L. (2022). Evolutionary Trajectories toward High-Level β -Lactam/ β -Lactamase Inhibitor Resistance in the Presence of

Multiple β -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 66(6), e00290-22.

<https://doi.org/10.1128/aac.00290-22>

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*, 30(1), 37–48.

<https://doi.org/10.47464/MetroCiencia/vol30/1/2022/37-48>

Squadrito, F. J., & del Portal, D. (2023). Nitrofurantoin. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470526/>

Truppia, L. A., Mollerach, A., Alejandro Di Conza, J., Radice, M., Mugna, V., Méndez, E.,

& Osvaldo Gutkind, G. (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*, 23(9), 525–528. <https://doi.org/10.1157/13080271>

Víctor Carrero López, José María Molero García, & Jesús Salinas Casado. (2021). *Protocolo de tratamiento de las infecciones del tracto urinario (ITU)*. Asociación Española de Urología (AEU); Fundación para la Investigación en Urología (FIU).

World Health Organization. (2021). *WHO integrated global surveillance on ESBL-producing E. coli using a “One Health” approach: Implementation and opportunities*. World Health Organization. <https://iris.who.int/handle/10665/340079>

Yábar, M. N., Curi-Pesantes, B., Torres, C. A., Calderón-Anyosa, R., Riveros, M., & Ochoa, T. J. (2017). Multirresistencia y factores asociados a la presencia de betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* provenientes de urocultivos. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 34(4), 660–665.

<https://doi.org/10.17843/rpmesp.2017.344.2922>