

Frecuencia de los genes de virulencia *iutA*, *ireA* y *cvaC* de *Escherichia coli* y su relación con la presentación clínica de la infección urinaria adquirida en la comunidad en adultos

Sofía Alejandra Fonseca Martínez

Trabajo de Grado para Optar al título de Magíster en Microbiología

Director

Ruth Aralí Martínez Vega

Doctora en Ciencias de la Salud Pública en Enfermedades Infecciosas

Codirector

Libeth Yajaira Criado Guerrero

Magíster en Ciencias Básicas Biomédicas

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Salud

Escuela de Microbiología

Magíster en Microbiología

Bucaramanga

2020

Dedicatoria

A todos los que no me dejaron en el camino

Agradecimientos

A COLCIENCIAS y a la GOBERNACIÓN DE SANTANDER.

A la UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER y al Grupo de Inmunología y Epidemiología Molecular. A la UNIVERSIDAD DE SANTANDER y al Laboratorio de Investigaciones Biomédicas y Biotecnologías, especialmente a Jorge Silva, Julián, Martica, Esmeralda, Andrea, Elva y Sandra. Al Prof. Henry Bautista por toda su generosidad, colaboración con el proyecto y por sus consejos.

A la Prof. Clara Isabel González Rugeles, por su apoyo como directora de la Escuela de Microbiología y directora del grupo GIEM.

A la Coordinadora de la Maestría en Microbiología, Prof. Giovanna Rincón Cruz, por su inmensa ayuda y consejos.

A mi directora Ruth Martínez y a mi codirectora Libeth Criado, por su apoyo incondicional, sus enseñanzas y su paciencia infinita.

A los docentes, personal administrativo y de laboratorio de la Escuela de Microbiología, especialmente a los profesores Arturo Gutiérrez, Germán Zafra, Clara Sánchez, Martha Díaz y Nelson Uribe. A Claudita Arenas, Oscar, Fanny, Claudia, Yudy y Martica.

A mis compañeros de la Maestría en Microbiología y al Semillero de Biología Molecular y Evolución, ustedes son mis chicos.

A mis primos Blanca Morales y Vicente Gómez (Q.E.P.D.), quienes me acompañaron desde el inicio. Sin ellos, no lo habría logrado.

A la familia Gélvez Cortés, en especial a Sergio y Adriana, por toda su colaboración, comprensión y paciencia.

A la familia Rey Ortega por tratarme siempre como a una hija más. A la Oruga, por estar conmigo hasta en mis peores momentos.

A mis amigos en la distancia, Alejandro González y Alfredo Schemel, siempre pendientes.

A mi gordito hermoso, mi fiel escudero, vencedor de mil batallas, Kerberos. Cuando abandone este mundo, quiero ir a donde quiera que estés.

Por último, a todos mis familiares y amigos que no dudaron en tenderme la mano para ayudarme.

RESUMEN

TÍTULO: FRECUENCIA DE LOS GENES DE VIRULENCIA *iutA*, *ireA* Y *cvaC* DE *Escherichia coli* Y SU RELACIÓN CON LA PRESENTACIÓN CLÍNICA DE LA INFECCIÓN URINARIA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD EN ADULTOS*

AUTOR: SOFÍA ALEJANDRA FONSECA MARTÍNEZ**

PALABRAS CLAVE: *Escherichia coli*, INFECCIONES DE TRACTO URINARIO, GENES DE VIRULENCIA.

DESCRIPCIÓN:

Las infecciones del tracto urinario (ITU) son muy frecuentes en el mundo y son causadas principalmente por *Escherichia coli* uropatógena (ECUP). ECUP tiene factores de virulencia que le permiten colonizar el tracto urinario y persistir. El objetivo del estudio fue determinar la relación de la presencia de los genes de virulencia *iutA*, *ireA* y *cvaC* de ECUP con la presentación clínica de la infección de vías urinarias adquirida en la comunidad de pacientes adultos atendidos en instituciones de salud de Bucaramanga. Se hizo un estudio de casos y controles que incluyó adultos con sospecha clínica de ITU y aislamiento de *E. coli* ($\geq 10^3$ UFC/ml). Los casos fueron pacientes con urosepsis o ITU alta (pielonefritis) y los controles pacientes con ITU baja (cistitis). Se realizó PCR de punto final para confirmar la identidad de *E. coli* y determinar la presencia de los tres genes. Las variables sociodemográficas de los pacientes y la resistencia a antibióticos de las cepas fueron obtenidas de las historias clínicas. Se analizaron 38 casos (31 pielonefritis y 7 urosepsis) y 114 controles. El gen más frecuente fue *iutA* (casos 42,1% vs controles 48,3%), seguido de *ireA* (18,4% vs 17,5%) y *cvaC* (10,5% vs 13,2%), sin embargo, no se encontró asociación entre estos genes y la presentación clínica de la enfermedad. Ser hombre se asoció con mayor posibilidad de tener ITU alta/urosepsis (OR 2,91 IC95% 1,10–77,69). Adicionalmente, se halló una mayor frecuencia de resistencia a las penicilinas y a quinolonas de segunda generación cuando el gen *iutA* estaba presente en las cepas de ECUP. En conclusión, la frecuencia de los factores de virulencia estudiados fue menor a la reportada en estudios previos. Además, la ausencia de asociación de estos factores de virulencia con la presentación clínica de la ITU difiere de lo reportado previamente en pacientes españoles.

* Proyecto de grado

** Facultad de Salud. Escuela de Microbiología. Director: Ruth Aralí Martínez Vega, Doctora en Ciencias de la Salud Pública en Enfermedades Infecciosas.

ABSTRACT

TITLE: FREQUENCY OF THE *iutA*, *ireA* and *cvaC* VIRULENCE GENES of *Escherichia coli* AND THEIR RELATIONSHIP WITH THE SEVERITY OF COMMUNITY-ACQUIRED URINARY TRACT INFECTION IN ADULTS*

AUTHOR: SOFÍA ALEJANDRA FONSECA MARTÍNEZ**

KEY WORDS: *Escherichia coli*, URINARY TRACT INFECTIONS, VIRULENCE GENES.

DESCRIPTION:

Urinary tract infections (UTIs) are very common in the world and are mainly caused by uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC). UPEC has virulence factors that allow it to colonize and persist in the urinary tract. The aim of the study was to determine the relationship of the presence of the *iutA*, *ireA* and *cvaC* virulence genes of uropathogenic *E. coli* with the severity of the community-acquired urinary tract infection of adult patients treated in health institutions in Bucaramanga. A case control study was conducted, adults with clinical suspicion of UTI and isolation of *E. coli* ($\geq 10^3$ CFU/ml) were included. The cases were patients with urosepsis or upper UTI (pyelonephritis) and the controls were patients with low UTI (cystitis). Endpoint PCR was performed to confirm the identity of *E. coli* and to evaluate the presence of the three genes. The sociodemographic variables of the patients and the antibiotic resistance of the strains were obtained from the medical records. 38 cases (31 pyelonephritis and 7 urosepsis) and 114 controls (cystitis) for each gene were analyzed. The most frequent gene was *iutA* (cases 42.1% vs controls 48.3%), followed by *ireA* (18.4% vs 17.5%) and *cvaC* (10.5% vs 13.2%), however, no relationship was found between the presence of these three genes and the severity of the disease. The male gender was associated with a greater possibility of having an upper UTI/urosepsis (OR 2.91 95% CI 1.10 - 77.69). Also, a higher resistance frequency to penicillins and second-generation quinolones was found when the *iutA* gene was present in the UPEC strains. In conclusion, the frequency of the virulence factors studied was lower than the reported in previous studies. In addition, the lack of relationship between these virulence factors and the UTI severity differs from what was previously reported in Spanish patients.

* Master of Science Thesis

** Facultad de Salud. Escuela de Microbiología. Director: Ruth Aralí Martínez Vega, Doctora en Ciencias de la Salud Pública en Enfermedades Infecciosas.

Tabla de Contenido

	Pág.
INTRODUCCIÓN	13
1. OBJETIVOS	19
1.1 Objetivo General	19
1.2 Objetivos Específicos.....	19
3. CUERPO DEL TRABAJO	20
3.1 Marco Referencial.....	20
3.1.1 Método.	27
3.1.2 Resultados.....	33
3.1.2.1 Discusión.....	48
4. CONCLUSIONES	57
5. RECOMENDACIONES.....	58
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60
APÉNDICES.....	71

Lista de Tablas

Tabla 1. <i>Características sociodemográficas, síntomas y antecedentes de los pacientes del estudio</i>	35
Tabla 2. <i>Resultados del hemograma y creatinina de los pacientes del estudio</i>	36
Tabla 3. <i>Resultados del parcial de orina de los pacientes del estudio</i>	37
Tabla 4. <i>Resistencia a antibióticos de las cepas aisladas de los pacientes</i>	39
Tabla 5. <i>Resistencia por familias de antibióticos y presencia de los tres genes estudiados en las cepas de E. coli aisladas de los pacientes.</i>	47

Lista de Figuras

Figura 1. Estandarización de la PCR de punto final para la detección de los genes <i>iutA</i> , <i>cvaC</i> e <i>ireA</i> en cepas de <i>E. coli</i>	41
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Lista de Gráficos

Gráfico 1. Variación de la resistencia a antibióticos por año de recolección de las cepas de <i>E. coli</i> analizadas.....	40
Gráfico 2. Proporción de los genes <i>iutA</i> , <i>ireA</i> y <i>cvaC</i> en los casos y controles de las cepas de <i>E. coli</i> analizadas.....	42
Gráfico 3. Cantidad de genes encontrados en las cepas de <i>E. coli</i> según la presentación clínica de la ITU.....	43
Gráfico 4. Proporción de los genes <i>iutA</i> , <i>ireA</i> y <i>cvaC</i> en las cepas de <i>E. coli</i> analizadas en los pacientes con urosepsis, pielonefritis y cistitis.	44

Lista de Apéndices

A. Aval del Comité de Ética de la Investigación de la E.S.E. ISABU	71
B. Contrapartida Universidad Industrial de Santander - Universidad de Santander del proyecto Marco.	72
C. Aval del Grupo de Investigación de Inmunología y Epidemiología Molecular (GIEM).....	73

Introducción

Las infecciones del tracto urinario (ITU) son unas de las infecciones bacterianas más frecuentes en el mundo, ocupando el segundo lugar después de las infecciones respiratorias, y se estima que afectan aproximadamente a 150 millones de personas cada año (Harding y Ronald, 1994; Foxman 2010). Además del menoscabo en las condiciones clínicas de los pacientes, la alta frecuencia de esta infección se traduce en un gran gasto económico y pérdidas por ausentismo laboral durante la incapacidad (Litwin, et al., 2005). Por ejemplo, solo en EE.UU., el costo anual del tratamiento de esta enfermedad supera los \$3,5 mil millones de dólares (Foxman, 2010). Por otra parte, en Nigeria el costo anual de esta enfermedad, incluyendo hospitalizaciones recurrentes, realización periódica de exámenes y demás gastos médicos, alcanza los seis billones de dólares estadounidenses (Perfil de Frecuencia, Uroanálisis y Susceptibilidad de Patógenos causantes de Infecciones del Tracto Urinario en el Estado de Enugu, Sureste de Nigeria, 2014).

Adicionalmente, los microorganismos que causan las ITU han sido objeto de gran interés y preocupación por parte de investigadores, gobiernos, organismos internacionales como la Organización Mundial de la Salud (OMS), académicos y comunidad en general; debido a que los uropatógenos responsables de las ITU cada vez presentan una resistencia más alta frente a tratamientos con antimicrobianos. Particularmente para *E.coli*, según el reporte de la OMS de 2014, la resistencia a cefalosporinas de tercera generación osciló entre 0 y 95% en el mundo y en la región de las Américas el mayor porcentaje detectado fue del 68%, y la resistencia a la fluoroquinolonas fue de 0 a 98% y de 2 a 60%, respectivamente (OMS, 2014).

Esta situación constituye una grave amenaza para la salud pública mundial, razón por la cual, se han realizado en los últimos años estudios que analizan el comportamiento de enfermedades como las urinarias, para establecer pautas que permitan efectuar diagnósticos efectivos y oportunos que conlleven a la aplicación de tratamientos más adecuados y contundentes contra este tipo de microorganismos; al tiempo que sea posible plantear, desarrollar y efectuar estrategias preventivas en este tipo de situaciones (Sweileha, Al-Jabib, Zyoudb, Sawalhaa, Abu-Tahaa, 2018).

Las ITU se presentan en varias formas y existen varias clasificaciones, una de estas es la anatómica donde las clasifican como altas (pielonefritis o absceso renal) o bajas (cistitis, uretritis no gonocócicas y prostatitis agudas), otra clasificación es según las complicaciones (ITU no complicada e ITU complicada), y otra propuesta más reciente las clasifica en cistitis o pielonefritis no complicada, cistitis o pielonefritis complicada, prostatitis, infección urinaria asociada a catéter y bacteriuria asintomática (Lee y Le, 2018) (Lozano, 2003).

Las ITU son causadas por un amplio espectro de patógenos que pueden ser bacterias Gram positivas, bacterias Gram negativas y hongos. Sin embargo, el agente causal más frecuente tanto de ITU no complicada como de ITU complicada es *Escherichia coli* uropatógena (ECUP) con un 75% y un 65% de los casos, respectivamente (Laupland, Ross, Pitout, Church y Gregson, 2007). Esta bacteria puede generar desde bacteriuria asintomática y cistitis hasta pielonefritis aguda y urosepsis (Foxman, 2010).

En Colombia, en un estudio realizado en una Institución Prestadora de Servicio de Salud de tercer nivel en Medellín entre los años 2011 y 2012, en la cual se analizaron 1.959 individuos y encontraron 31% de prevalencia de ITU, también se evidenció la predominancia de *E. coli* sobre otros microorganismos, ocasionando el 69% del total de las ITU. Igualmente, se encontró que las mujeres son más propensas que los hombres a sufrir de una infección de ese tipo y se estimó que cerca del 40% de ellas experimentará al menos un episodio de ITU a lo largo de su vida (Orrego, Henao y Cardona, 2014). En consonancia con dicho estudio, en otra investigación similar realizada en el año 2012 en un Hospital de segundo nivel del departamento de Antioquia, se encontró una prevalencia de ITU de 14,5% en urocultivos realizados en la institución. Además, se identificaron 10 uropatógenos siendo *E. coli* el más prevalente con 58,7% (Cardona, Ramírez, Álvarez, Mena e Higuaita, 2014).

En Santander, en el año 2015, la revista del Observatorio de Salud Pública presentó estadísticas de Morbilidad del año 2013 y Mortalidad del año 2014, en estas, las ITU se ubican dentro de las primeras cinco causas de atención en salud en el departamento, es la primera causa de hospitalización con un total de 289.950 personas atendidas y la cuarta causa de atención en el servicio de urgencias con un total de 1.274.161 consultas. Al considerar la morbilidad atendida en el servicio de consulta externa del año 2013, se presentaron 104.443 casos de ITU en mujeres entre los 27 y 59 años de edad, ubicándose en el cuarto lugar de afecciones más diagnosticadas entre 4.695.100 mujeres valoradas; además, 45.920 mujeres mayores de 60 años fueron igualmente diagnosticadas con dicha patología, situándose en el quinto lugar de mayor morbilidad entre 2.591.177 mujeres de ese rango de edad atendidas durante ese año en Santander (Revista OSPS, 2015).

ECUP se encuentra normalmente como un microorganismo comensal de la microbiota intestinal de personas sanas, pero cuando invade las vías urinarias causa infección (Zhang y Foxman, 2003). Las ITU no complicadas comienzan cuando los uropatógenos que residen en el intestino contaminan el área periuretral y colonizan la uretra. La migración posterior a la vejiga y la expresión de pilis y adhesinas dan como resultado la colonización e invasión de las células superficiales en sombrilla. La respuesta inflamatoria del hospedero, incluida la infiltración de neutrófilos, comienza a eliminar las bacterias extracelulares. Sin embargo, algunas bacterias evaden el sistema inmunológico, ya sea a través de la invasión de las células hospederas o mediante cambios morfológicos, como la filamentación, que resiste a los neutrófilos, y estas bacterias se multiplican y forman biopelículas. Además, las bacterias producen toxinas y proteasas que inducen daño a las células hospederas, liberando nutrientes esenciales que promueven la supervivencia bacteriana y el ascenso a los riñones. La colonización del riñón da como resultado la producción de toxinas bacterianas y el daño al tejido. Si no se da tratamiento adecuado, el patógeno atraviesa la barrera epitelial tubular en los riñones y ocasiona que la ITU progrese a bacteriemia (Flores-Mireles, Walker, Caparon y Hultgren, 2015).

Los uropatógenos que causan infecciones urinarias complicadas siguen los mismos pasos iniciales que los descritos para las infecciones no complicadas, incluida la colonización periuretral, la progresión a la uretra y la migración a la vejiga. Sin embargo, para que los patógenos causen infección, la vejiga debe estar comprometida con ciertas condiciones de base de los pacientes como estado de inmunosupresión, la exposición a antibióticos, uso de catéter vesical, así como anomalías anatómicas del tracto urinario. La infección induce a la infiltración de neutrófilos, las bacterias se multiplican, forman biopelículas y promueven el daño

epitelial, en este momento se instala la infección en los riñones y la producción de toxinas induce daño tisular. Sin tratamiento, los uropatógenos que causan infecciones urinarias complicadas también pueden progresar a bacteriemia al cruzar la barrera de las células epiteliales tubulares (Flores-Mireles, et al, 2015).

La antibioticoterapia suele ser efectiva para el tratamiento de las ITU, pero debido al aumento de reportes de casos de resistencia antimicrobiana, así como el inicio de un esquema antibiótico inapropiado, o a la falta de seguimiento clínico, se reportan fallas terapéuticas e infecciones complicadas. Una de las causas de estas fallas es la presencia de genes de virulencia en *E. coli* que se asocian a una mayor gravedad de las ITU (Russo, et al., 2003). Identificar estos genes contribuye a caracterizar las cepas de *E. coli*, a determinar la fisiopatología de las ITU y a decidir cuál sería la mejor estrategia terapéutica para el tratamiento de cada paciente (Tarchouna, Ferjani, Ben-Selma y Boukadida, 2013).

Las cepas de ECUP producen factores de virulencia codificados en islas de patogenicidad (PAI, por sus siglas en inglés), plásmidos y transposones que le permiten colonizar el tracto urinario y persistir en éste a pesar de la acción del sistema inmune del hospedero. Estos factores de virulencia que se encuentran asociados al desarrollo de ITU se pueden dividir en dos grupos: 1) Factores de virulencia asociados a la superficie celular entre los que se encuentran adhesinas, cápsulas e invasinas; y 2) Factores de virulencia secretados, que son un grupo de toxinas y otro de sistemas de sideróforos (Emődý, Kerényi y Nagi, 2003).

Los factores de adherencia de ECUP dentro del primer grupo son las fimbrias, las más comunes son el tipo 1, tipo P, tipo S y F1C, codificadas por los operones *fim*, *pap*, *sfa* y *foc*, respectivamente (Wiles, Kulesus y Mulvey, 2008); y el factor de virulencia más importante del segundo grupo secretado por ECUP es la α -hemolisina (HlyA) codificada por el gen *hly*, debido a que es una toxina proinflamatoria muy fuerte que promueve la liberación de IL-6 e IL-8 aumentando la gravedad de la presentación de la ITU (Kot, 2017). Otras toxinas de relevancia son el factor necrotizante citotóxico, CNF1, la proteína secretada autotransportadora, TcpC y colicina V, codificadas por los genes *cnf1*, *sat*, *TcpC* y *cvaC*, respectivamente (Agarwal, Srivastava y Singh, 2012). Además, se han reportado otros factores de virulencia como los sistemas de sideróforos, entre los cuales se encuentran *iutA* e *ireA* que se han asociado tanto a la ocurrencia de la ITU como a la gravedad de la presentación clínica de esta infección (Johnson, 2005; Kudinha, et al., 2012). Por otra parte, algunos de estos factores, como *iutA*, que son codificados en plásmidos, se han encontrado en mayor frecuencia en cepas resistentes a diferentes antibióticos debido a que este gen está en el mismo elemento móvil que contiene determinantes de resistencia (Calhau, et al, 2015).

Todo lo anterior da evidencia de la alta carga generada por la ITU y justifica la realización de estudios que permitan ampliar el conocimiento sobre la fisiopatología de esta enfermedad. Por lo tanto, se planteó como pregunta de investigación si la presencia de los genes de virulencia *iutA*, *ireA* y *cvaC* en *Escherichia coli* uropatógena se relacionan con la presentación clínica de la infección urinaria adquirida en la comunidad en adultos que residen en Bucaramanga.

1. Objetivos

1.1 Objetivo General

Determinar la relación de la presencia de los genes de virulencia *iutA*, *ireA* y *cvaC* de *Escherichia coli* uropatógena con la presentación clínica de la infección de vías urinarias adquirida en la comunidad de pacientes adultos atendidos en instituciones prestadoras de servicios de salud de Bucaramanga.

1.2 Objetivos Específicos

Describir las características sociodemográficas y clínicas de la población de estudio.

Determinar la frecuencia de los genes *iutA*, *ireA* y *cvaC* en las cepas recolectadas de *Escherichia coli* uropatógena según la presentación clínica de la infección urinaria.

Establecer la relación de la presencia de cada gen de virulencia estudiado de *Escherichia coli* con la presentación clínica de la infección urinaria en la población estudiada.

2. Cuerpo del Trabajo

2.1 Marco Referencial

Escherichia coli es el anaerobio facultativo más abundante presente en el intestino de los humanos y de muchas otras especies animales de sangre caliente. La mayoría de estas cepas comensales coexisten en armonía con su hospedero en una relación simbiótica en donde la bacteria, además de beneficiarse del hospedero, sintetiza algunos cofactores y contribuye a la resistencia a la colonización por parte de organismos patógenos (Wiles, 2008).

Sin embargo, *E. coli* también es una bacteria patógena. Los hospederos susceptibles a ella incluyen aves, cerdos, ganado, conejos, ovejas y humanos. El tracto gastrointestinal, las meninges y los riñones son algunos de los órganos afectados por *E. coli* (Wiles, 2008). Estas cepas patógenas se clasifican ampliamente como *E. coli* diarreogénicas y *E. coli* patógena extraintestinal (ExPEC) (Russo y Johnson, 2000).

Dentro de cada uno de estos grupos, hay conjuntos de cepas conocidas como patotipos que comparten factores de virulencia comunes y producen resultados patogénicos similares, en algunos casos a través de mecanismos diferentes (Marrs, Zhang y Foxman, 2005). Varios patotipos de *E. coli* diarreogénicas dan lugar a gastroenteritis, pero rara vez causan enfermedades fuera del tracto intestinal. ExPEC, por otro lado, ha mantenido la capacidad de persistir y además tiene la capacidad de diseminarse a través de un mecanismo de translocación bacteriana desde el intestino hasta los órganos estériles (autoinfección) (Ochoa y Gómez-Duarte, 2016), como por

ejemplo al tracto urinario. Una vez allí, ECUP coloniza preferentemente la vejiga y causa cistitis, pero también puede ascender a través de los uréteres hacia los riñones, causando pielonefritis (Bower, Eto y Mulvey, 2005; Mulvey, et al., 2000).

Clínicamente, las ITU se definen por la presencia de bacterias en la orina, conocida como bacteriuria, acompañada de sintomatología. Los síntomas de una ITU baja, es decir, que afecta a la uretra y la vejiga, incluyen micción frecuente (polaquiuria), sensación de ardor y dolor durante la micción (disuria), dolor suprapúbico o malestar abdominal inferior, y orina turbia o sanguinolenta que a menudo tiene mal olor. La ITU superior, es decir, que afecta a los uréteres y al riñón, generalmente se diagnostica por la presencia de bacteriuria y piuria que se acompaña de dolor en los flancos y fiebre. Además, debido a la gravedad de la infección, existe la posibilidad de causar daño renal irreversible y la muerte (Scholes, et al., 2005).

Las ITU se consideran las infecciones más comunes en los seres humanos. El desarrollo de las ITU depende de factores anatómicos, de la integridad de los mecanismos de defensa del hospedero y de la virulencia de los microorganismos infectantes (Bien, Sokolova y Bozko, 2012). El establecimiento exitoso de la infección por patógenos bacterianos requiere la adhesión a las células hospedadoras, la colonización de tejidos y, en ciertos casos, la invasión celular, seguida de la multiplicación intracelular, la diseminación a otros tejidos o la persistencia (Bien, Sokolova y Bozko, 2012).

Las bacterias patógenas y comensales codifican sistemas complejos para la adquisición de hierro ambiental, un metal esencial que es insoluble en condiciones neutrales. La captación de

hierro en las bacterias se logra principalmente a través de la síntesis, la exportación y la captación de pequeñas moléculas quelantes de hierro denominadas sideróforos. En las bacterias gramnegativas, la captación de sideróforos se facilita mediante receptores específicos de la membrana externa. ECUP utiliza una serie de receptores de hierro de la membrana externa para facilitar la importación de hematófagos y sideróforos desde el interior del tracto urinario donde la disponibilidad de hierro es limitada (Welch, et al., 2002).

Las cepas de ECUP producen hasta cuatro sideróforos diferentes: catecolatos, enterobactina y salmochelina, aerobactina de hidroxamato y yersiniabactina, este último es un sideróforo de tipo mixto (Henderson, et al., 2009). Mientras que la enterobactina es producida y utilizada por casi todas las cepas de *E. coli*, los genes que codifican los receptores de aerobactina, salmochelina y yersiniabactina se encuentran con más frecuencia entre las cepas patógenas (Johnson y Stell, 2000). Los genes responsables de la síntesis de aerobactina se encuentran en plásmidos o forman parte de una PAI.

Mientras que *E. coli* codifica varios receptores de la membrana externa para la importación de sideróforos catecolatos, un único receptor, IutA, es responsable de la captación de la aerobactina siderófora de hidroxamato y se encuentra codificado en el plásmido *ColV*. La proteína receptora de aerobactina codificada por el gen *iutA*, actúa interactuando selectivamente y no covalentemente con iones de hierro (Fe) y biológicamente dirige el movimiento del compuesto de transporte de hierro dentro, fuera, o entre células, a través de un transportador o un poro (García, Brumbaugh y Mobley, 2011).

Otros factores de virulencia son las colicinas, estas son bacteriocinas citotóxicas codificadas en plásmidos y producidas por *E. coli* en condiciones de estrés. El gen *cvaC* codifica para la colicina V, una toxina proteica pequeña que inhibe el crecimiento bacteriano. Este gen es un marcador de los plásmidos *ColV* y se ha propuesto que confieren una mayor virulencia a través del transporte de otros factores de virulencia específicos, incluido el sistema de aerobactina y los genes de resistencia al suero, como los genes *traT* e *iss* (Fernandez-Beros, Kissel, Lior y Cabello, 1990). Aunque los plásmidos de *ColV* se han encontrado de forma natural en muchas cepas de *E. coli* y otros miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, estos a menudo se asocian con la invasividad y patogenicidad de *E. coli* (Gilson, Mahanty y Kolter, 1984).

El plásmido *ColV* fue secuenciado y parcialmente caracterizado en el 2006 por Johnson y colaboradores en un estudio realizado en cepas patógenas aviarias de *E. coli*. Se determinó la prevalencia de los genes de virulencia identificados contenidos en este plásmido y se encontró que el gen *iutA* estaba en el 80% de las cepas, mientras que el gen *cvaC* se encontraba en el 61% de estas. Además, se halló que en conjunto, estos dos genes estaban en el 22% de las cepas. Los autores sugieren que el plásmido contiene una parte conservada donde está contenido el gen *iutA*, y una parte variable donde está contenida el gen *cvaC*, de allí las diferencias en la prevalencia de ambos genes (Johnson, Siek, Johnson y Nolan, 2006).

Por otra parte, el gen *ireA* que codifica para el receptor sideróforo, se encuentra involucrado en el transporte de sideróforos y actúa como un gen de virulencia regulado por la presencia de hierro en el medio en ExPEC aisladas de sangre u orina de humanos (Russo, Carlino y Johnson, 2001).

En cuanto al estudio de la virulencia de los genes mencionados, en una investigación realizada en la Universidad de Michigan en EE.UU., se evaluaron por electroforesis en gel de poliacrilamida en 2 dimensiones (2D-PAGE) seis receptores de hierro conocidos: ChuA, IutA, FhuA, IroN, IreA e Iha. Además, se estudió por PCR cuantitativa en tiempo real la inducción de estos receptores de hierro de *E. coli* en orina humana con carencia de hierro. Se encontró, que una adición de solución de FeCl₂ 10 μM en la orina humana reprimió la transcripción de todos los receptores de hierro estudiados, incluyendo IreA e IutA. Adicionalmente, las cepas comensales, patógenas intestinales y uropatógenas, presentaron tasas de crecimiento similares en orina humana, demostrando que la habilidad de crecer en este medio *per se*, no es un rasgo urovirulento. Por lo tanto, la expresión en su membrana externa de receptores de hierro permite compensar la limitación de este ion en la orina humana, mientras que cuando el medio es rico en iones hierro, la expresión de estos genes se reprime (Alteri y Mobley, 2007).

Al respecto de la asociación entre los genes de virulencia de ECUP y la presentación clínica de la enfermedad, en un estudio desarrollado por Johnson y colaboradores en Barcelona, España, se analizaron 35 genes de virulencia de ECUP y se encontró que los genes *ireA*, *iutA* y *cvaC* están presentes en cepas aisladas de pacientes con pielonefritis con una mayor prevalencia en contraste con aquellas cepas aisladas de pacientes con cistitis, lo que apoya la hipótesis de que puede existir una diferencia en la distribución de ciertos factores de virulencia dependiendo del síndrome causado (cistitis o pielonefritis) (Johnson, et al., 2005).

Adicionalmente, en otro estudio realizado en Corea del Sur por Lee y colaboradores se encontró que el gen *iutA* (sideróforo) tuvo una prevalencia significativamente mayor en cepas

patógenas de *E. coli* que en cepas comensales y se definió este gen como un indicador independiente de ITU o de bacteremia (Lee, et al., 2010).

Kudinha y colaboradores realizaron un análisis comparativo entre cepas de *E. coli* aisladas de mujeres con cistitis y cepas aisladas de muestras fecales de mujeres sanas, teniendo como objetivo 22 genes de virulencia y encontraron que todos los genes estaban presentes en al menos una de las muestras aisladas de pacientes con cistitis y que la prevalencia de estos osciló entre el 1 y el 96%, mientras que cuatro factores de virulencia no se encontraron en ningún aislamiento de materia fecal. En comparación con éstos, los aislamientos de cistitis tuvieron una prevalencia más alta de 18 de los 22 genes estudiados, incluidos 8 genes de adhesinas (*afa/draBC*, *sfaS*, *focG*, *papGII*, *papGIII*, *papAH*, *papC*, *papEF*), 2 genes de toxinas (*cnfI* y *hlyA*), 3 genes de sistema de sideróforo (*iutA*, *fyuA* y *iroN*), y 5 genes de protectinas (*kpsMII*, *kpsMTIII*, *traT*, *ompT* y *usp*). Además, aunque la prevalencia de otros 4 genes (*fimH*, *papGI*, *bmaE* y *gafD*) fue mayor en las mujeres con cistitis, esto no fue estadísticamente significativo (Kudinha, et al., 2012).

Por otra parte, Lavigne y colaboradores realizaron una investigación en la que caracterizaron el perfil de virulencia y la resistencia a antibióticos de cepas de ECUP aisladas de pacientes hospitalizados por UTI en diferentes hospitales en Francia. Los alelos *papGII*, *papA*, *papC*, *papE*, *kpsMTII* e *iutA* fueron significativamente más frecuentes en las cepas infectantes en comparación con las cepas colonizadoras ($p < 0,05$). Entre los factores de virulencia estudiados, los alelos *papGII*, *papA*, *papC* e *iutA* se encontraron más frecuentemente de forma significativa en cepas aisladas de pielonefritis en comparación con las cepas colonizadoras y las cepas

aisladas de cistitis y prostatitis ($p < 0,001$, $p = 0,002$, $p = 0,04$ y $p = 0,02$, respectivamente) (Lavigne, et al., 2016).

A pesar de ser un receptor de hierro, *iutA* también se encuentra involucrado en la formación de biopelículas en superficies inanimadas, como se logró demostrar en un estudio realizado en España donde se determinó que 10 de 15 cepas (66,7%) que formaban biopelículas, presentaban el gen *iutA*. De las 15 cepas, 7 eran formadoras fuertes de biopelículas, y de éstas, 5 (71,4%) tenían este gen; las ocho restantes eran formadoras débiles de biopelículas, y de éstas, 5 (62,5%) tenían este gen. A las cepas estudiadas también se les determinó el serogrupo, encontrándose que 12 (85,7%) pertenecían a O1, O2, O6, O18, O25 y O75, los cuales se consideran uropatógenos. Estos resultados sugieren que este gen podría estar también involucrado en la formación de biopelícula en las etapas tempranas de la infección en el tracto urinario (Naves, et al, 2008).

En cuanto a los genes evaluados en este trabajo, se aclara que se escogieron de acuerdo a un estudio realizado en España por Johnson y colaboradores que mostró una mayor frecuencia de *iutA*, *ireA* y *cvaC* en casos de pielonefritis (71%, 47% y 41%, respectivamente) comparados con aquellas cepas aisladas de pacientes con cistitis (35%, 13% y 9%, respectivamente) (Jonhson, 2005), y porque nuestro grupo de investigación ha estudiado otros genes de virulencia en estas cepas de *E. coli* uropatógena como son *fimH*, *fyuA*, *iroN*, *hlya*, *aer* y *sfa/foc* quedando de este modo analizados los genes más importantes previamente asociados con la patología urinaria.

2.1.1 Método.

Tipo de estudio: Estudio observacional, analítico de casos y controles, retrospectivo.

Población estudio: Adultos que vivían en el área metropolitana de Bucaramanga (AMB) que presentaron una ITU sintomática, adquirida en la comunidad y ocasionada por *Escherichia coli*.

Criterios de Inclusión: Hombres y mujeres de 18 o más años, residentes en el AMB que consultaron al Hospital Local del Norte u Hospital Universitario de Santander, con sospecha clínica de ITU (síntomatología urinaria) y solicitud de urocultivo, en el que se aisló *Escherichia coli* ($\geq 10^3$ UFC/ml en cistitis en mujeres o $\geq 10^4$ UFC/ml en pielonefritis en mujeres) (Grabe, et al 2015).

Criterios de Exclusión: mujeres embarazadas, pacientes con infección polimicrobiana, diagnóstico de VIH, cáncer, o con tratamiento inmunosupresor. También se excluyeron pacientes con historia de uso de sonda vesical en los últimos siete días antes de la consulta o que hayan estado hospitalizados en las últimas 72 horas antes del día del inicio de los síntomas.

Variabes: La variable dependiente fue la presentación clínica de la ITU. Los casos fueron los pacientes con urosepsis o ITU alta, es decir, con pielonefritis definida por presencia de síntomas urinarios o síntomas generales y el signo de puño percusión positiva en el examen físico o por definición del médico tratante reportada en la historia clínica. Los controles fueron los pacientes

con ITU baja, es decir, con cistitis o uretritis definidas por la presencia de síntomas urinarios bajos (disuria, polaquiuria, nicturia, urgencia urinaria, tenesmo vesical, dolor en hipogastrio).

Las variables independientes principales fueron los genes *iutA* (receptor de aerobactina), *ireA* (sideróforo) y *cvaC* (colicina [microcina] V). Se consideraron otras variables independientes del hospedero como la edad, el sexo y la comorbilidad, y del microorganismo el patrón de susceptibilidad a los antibióticos.

Tamaño de la muestra y muestreo: este estudio estuvo anidado en el proyecto “Asociación entre los genes *sfa/foc* y *fyuA* de *Escherichia coli* con ITU-AC alta en adultos de la zona Metropolitana de Bucaramanga” de la Convocatoria interna focalizada 2014 de la UDES con Acta de inicio No. 00414, código PICF0114493821804EJ y fecha de inicio 25 de febrero de 2015 y en el proyecto “Asociación entre los genes de virulencia *iroN* y *fimH* de *Escherichia coli* con la presentación clínica de la infección del tracto urinario adquirida en comunidad en adultos de la zona Metropolitana de Bucaramanga” de la convocatoria interna focalizada 2015 de la UDES con Acta de inicio No. 033-15, código PICF0115493821833 y fecha de inicio 10 octubre de 2016 del proyecto. El muestreo se realizó por conveniencia en los centros participantes entre los años 2015 y 2018.

Se había calculado el tamaño de muestra para cada uno de los tres genes, considerando un nivel de confianza del 95%, un poder del 80% y una relación casos:controles de 1:1. El gen con mayor requerimiento fue *iutA*, teniendo en cuenta una frecuencia en las cepas de los casos de 71% y en la de los controles de 35% (Johnson, et al., 2005). Se obtuvo un tamaño necesario de

33 casos y 33 controles teniendo en cuenta pérdidas del 10%. Para el cálculo del tamaño muestral se utilizó el programa Epidat 4.2.

Sin embargo, considerando que durante el desarrollo del proyecto *iutA* se encontró en menor frecuencia que la esperada, se decidió realizar la determinación de los genes a todos los casos disponibles entre las cepas recolectadas durante todo el periodo del estudio (n=38) y a tres controles por caso (n=114) seleccionados de forma aleatoria.

Aislamiento, antibiograma y masificación de *E. coli*: la obtención de cepas de *E. coli* se realizó por los profesionales de los laboratorios de los centros participantes que hacen el urocultivo y el antibiograma. Ellos tomaron una colonia identificada como *E. coli* por el equipo Vitek 2 compact en el H.L.N o por el equipo Phoenix 100 del HUS y la sembraron en un vial con agar Luria Broth para su transporte al laboratorio de la UDES. Estos equipos también realizan el antibiograma de forma automatizada. Posteriormente, en el Laboratorio de Investigaciones Biomédicas y Biotecnologías (LIBB) de la UDES se realizó cultivo en caja con agar Luria Broth para masificar la cepa. A las 16 horas de cultivo se tomó con asa estéril calibrada la totalidad de la cepa sembrada y se extrajo el ADN genómico por el método de ebullición que se almacenó a -20°C para su conservación hasta el procesamiento para la detección de los genes de virulencia de interés.

Caracterización molecular de *E. coli*: en el LIBB, con el ADN genómico almacenado, se realizó PCR de punto final para confirmar por el gen *uidA* que las cepas aisladas correspondían a *E. coli*. Se usaron los primers Forward 5' CGTGCTGCGTTTCGATGCGG 3' y Reverse 5'

CCCAGGTGTTTCGGCGTGGTG 3' que generan un producto de 302 pb (Farfán, et al, 2017). Las condiciones para esta PCR fueron: calentamiento (94°C, 5 minutos), 40 ciclos de desnaturalización (94°C, 30 segundos), alineamiento (58°C, 30 segundos), extensión (72°C, 1 minuto) y una extensión final (72°C, 5 minutos).

Posteriormente, con esta misma técnica, se identificaron los genes de virulencia; para *iutA* se usaron los primers Forward 5' GGCTGGACATCATGGGAACTGG 3' y Reverse 5' CGTCGGGAACGGGTAGAATCG 3', que generan un producto de 300 pb. Para *cvaC* los primers Forward 5' CACACACAAACGGGAGCTGTT 3' y Reverse 5' CTTCCCGCAGCATAGTTCCAT 3' que generan un producto de 680 pb (Johnson y Stell, 2000); y para *ireA* los primers Forward 5' AGATACGCTTGTTGTTAC 3' y Reverse 5' CATTCCATGCTGCTAC 3' que generan un producto de 788 pb (Li, et al, 2016).

Se estandarizó la PCR para estos genes, iniciando con las siguientes condiciones para los genes *cvaC* e *iutA*, según la enzima Taq polimerasa usada (Platinum™ Taq DNA Polymerase, Invitrogen™), y haciendo un gradiente de temperatura desde 61°C hasta 67°C (Platinum Taq): calentamiento (94°C, 2 minutos), 35 ciclos de desnaturalización (94°C, 30 s), alineamiento (61°C hasta 67 °C, 30s), extensión (72°C, 1:30 min) y una extensión final de (65°C, 10 min). Para *ireA*, calentamiento (94°C, 2 minutos), 35 ciclos de desnaturalización (94°C, 30 s), alineamiento (53°C a 55°C, 30s), extensión (72°C, 1:30 min) y una extensión final de (65°C, 10 min). Para determinar la temperatura de anillamiento adecuada, se realizó un gradiente de temperatura de 53°C a 55°C.

A los productos obtenidos, se les realizó electroforesis en gel de agarosa al 1,5% teñido con SYBR® safe DNA gel Stain de Invitrogen. Para comparar los tamaños de ADN se utilizó el marcador de peso molecular de 1 kb GeneRuler™ DNA Ladder ThermoScientific. La corrida electroforética se llevó a cabo por 30 minutos entre 80 y 90 voltios en una cámara de electroforesis horizontal y finalmente se visualizó el gen en un equipo transiluminador UV MiniBISpro.

Para la obtención de una cepa control positivo, se tomaron grupos de cinco muestras consecutivas. Al primer grupo positivo, se le realizó PCR individual a las muestras que conformaban ese grupo. Por secuenciación SANGER con la empresa Macrogen, se confirmó la identidad de cada gen en una muestra y ésta se tomó como control positivo en los ensayos sucesivos. Para confirmar la identidad de los genes, inicialmente se editaron las secuencias proporcionadas por MACROGEN con el programa Bioedit y posteriormente se analizaron con BLAST Nucleotide obteniéndose así, un porcentaje de homología para cada uno de los tres genes del 99%, el cual fue considerado como aceptable.

Recolección de la información y análisis: las variables sociodemográficas y clínicas se obtuvieron a partir de la base de datos anónima de los pacientes. Para el análisis se realizó una descripción de las características demográficas y clínicas de los sujetos participantes utilizando frecuencias absolutas y relativas para las variables cualitativas y medidas de tendencia central para las variables cuantitativas, en aquellas con distribución normal se reportó la media y la desviación estándar (DS) y aquellas sin distribución normal se informó la mediana y rango intercuartílico (RIQ). Así mismo, se describió el patrón de sensibilidad de las cepas y la

frecuencia de los genes evaluados. Posteriormente, se realizó un análisis univariado comparando la frecuencia de los genes de *E. coli* aisladas de los casos con la de las aisladas de los controles con la prueba exacta de Fisher.

También se compararon las otras variables independientes utilizando la prueba t de student para las variables cuantitativas con distribución normal o en caso contrario la prueba U de Mann-Whitney; y para las variables cualitativas se usó la prueba exacta de Fisher o Chi cuadrada. En todos los casos se consideró significancia estadística cuando el valor de p fue $< 0,05$. Además, se calcularon los Odds Ratio (OR) y con regresión logística múltiple los OR ajustados. Para estos análisis se usó el programa Stata 12 SE.

Consideraciones éticas:

Sustentada en la Resolución 008430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia, la presente se consideró una investigación sin riesgo por emplear métodos y técnicas documentales donde la fuente de información fue la base de datos anónima de los pacientes incluidos en los proyectos marco. Igualmente, no se hizo intervención o modificación alguna de variables biológicas, fisiológicas, psicológicas o sociales de los sujetos estudiados. Por lo tanto, no hubo ningún daño al sujeto de investigación como consecuencia del estudio. Además, la información recopilada en la presente investigación se guardará con estricta confidencialidad bajo el respeto por el derecho de *Habeas Data*, por lo cual, solo los investigadores y los tutores del proyecto tendrán acceso a ella manteniendo la debida reserva. Se aclara que no se recolectó información sobre número de

identificación, direcciones o teléfonos de los sujetos y que no se contactó en ningún momento a los sujetos.

Los proyectos marco cuentan con aprobación del Comité de Ética de ISABU y Comité de Ética de la UDES. Además, este proyecto cuenta con el aval del Comité de Ética en Investigación Científica (CEINCI) de la UIS.

2.1.2 Resultados.

Descripción de las características sociodemográficas y clínicas de los casos y controles:

Se analizaron un total de 38 casos (31 de pielonefritis y 7 de urosepsis) y 114 controles (cistitis). La mediana de la edad fue similar entre los grupos, siendo de 50 años en los casos y de 55,5 años en los controles. Sin embargo, en el grupo de controles hubo más mujeres que en los casos (90,4% vs 76,3%) (Tabla 1).

Todos los pacientes que entraron al estudio, tanto casos como controles tuvieron un urocultivo con recuento bacteriano $\geq 10^5$ UFC/ml. De los casos de pielonefritis, 14 tenían puño percusión positiva y los demás fueron clasificados como ITU alta según el criterio clínico del médico tratante. Así mismo, todos los casos de urosepsis fueron definidos por el médico tratante.

Los síntomas que se presentaron de forma significativa más frecuentemente ($p < 0.05$) en los pacientes con pielonefritis o urosepsis (casos) que en los controles fueron polaquiuria, dolor en

flancos, dolor costovertebral, dolor en hipogastrio, urgencia urinaria, nicturia y fiebre (Tabla 1). Las comorbilidades más frecuentes presentadas por los pacientes fueron diabetes mellitus e hipertensión arterial; y la ITU a repetición fue un antecedente reportado en la mayoría de los pacientes. Sin embargo, ninguna de estas presentó una diferencia significativa entre casos y controles. Otros antecedentes, como uso de antibiótico en los últimos dos meses previos a la presentación de los síntomas motivo de la consulta y cirugía que involucrara las vías urinarias, presentaron una frecuencia similar en ambos grupos (Tabla 1).

Tabla 1.

Características sociodemográficas, síntomas y antecedentes de los pacientes del estudio

Síntoma	Casos n=38	Controles n=114	p
Edad Mediana (RIQ)	50 (39-69)	55,5 (43-72)	0,21
Sexo Femenino n (%)	29 (76,3)	103 (90,4)	0,027
Disuria	26 (68,4)	96 (81,6)	0,088
Polaquiuria	19 (50)	35 (30,7)	0,031
Dolor en flancos	19 (50)	9 (7,9)	<0,001
Dolor costovertebral	18 (47,4)	8 (7)	<0,001
Dolor en hipogastrio	15 (39,5)	14 (12,3)	<0,001
Tenesmo vesical	14 (36,8)	24 (21)	0,052
Urgencia urinaria	13 (34,2)	8 (7)	<0,001
Nicturia	8 (21)	10 (8,8)	0,042
Hematuria	4 (10,5)	5 (4,4)	0,17
Fiebre	22 (57,9)	43 (37,7)	0,03
Diabetes mellitus	6 (15,8)	15 (13,2)	0,68
Hipertensión arterial	9 (23,7)	13 (11,4)	0,06
ITU a repetición	25 (65,8)	73 (64)	0,8
AB últimos 2 meses*	12 (31,6)	29 (25,4)	0,46
Cirugía vías urinarias	2 (5,3)	9 (7,9)	0,6

* Refirió uso de antibióticos en los últimos dos meses antes del inicio de los síntomas.

Con relación al hemograma, las variables medidas asociadas a los casos fueron: el hematocrito ($p=0,028$), que fue menor en los casos que en los controles, y el recuento de leucocitos totales ($p=0,0024$), que fue mayor en los casos que en los controles; mientras que los valores de hemoglobina, plaquetas y creatinina estaban en los niveles normales tanto en los casos como en los controles (Tabla 2).

Tabla 2.

Resultados del hemograma y creatinina de los pacientes del estudio

Analito	n (casos vs controles)	Casos n=38	Controles n=114	p
Hematocrito Mediana (RIQ)	23 vs 36	37,3 (35,1-39,5)	39,9 (38,6-41,1)	0,028
Hemoglobina (g/dl)	23 vs 35	12,4 (11,6-13,2)	13,2 (12,7-13,6)	0,059
Leucocitos totales $\times 10^3$	23 vs 35	14 (10,4-22,6)	8,9 (6,4-13,4)	0,0024
Plaquetas $\times 10^6$	22 vs 31	2,9 (2,3-3,8)	2,9 (2,4-3,5)	0,96
Creatinina mg/dl	17 vs 19	0,9 (0,8-2,01)	0,9 (0,8-1,1)	0,27

Por otra parte, en el análisis del parcial de orina realizado a los sujetos, sólo el urobilinógeno ($p=0,035$) se pudo asociar a los casos analizados. Los demás parámetros medidos que reflejaban un proceso patológico: nitritos positivo, leucocitosis, recuento de bacterias por campo de tres y cuatro cruces, no mostraron una diferencia estadísticamente significativa entre los casos y los controles (Tabla 3).

Tabla 3.
Resultados del parcial de orina de los pacientes del estudio

Analito	n (casos vs controles)	Casos n=38	Controles n=114	p
Densidad Mediana (RIQ)	28 vs 46	1015 (1010-1020)	1015 (1010-1020)	0,51
pH	28 vs 46	5 (5-7)	5.5 (5-6)	0,82
Nitritos n (%)	11 vs 17	11 (39,3)	17 (35,4)	0,7
Sangre tira	17 vs 23	17 (68)	23 (48,9)	0,12
Leucoesterasa	21 vs 41	13 (61,9)	24 (58,5)	0,80
Proteína	25 vs 46	6 (24)	6 (13)	0,23
Glucosuria	17 vs 39	2 (11,8)	3 (7,7)	0,6
Cetonuria	24 vs 45	2 (8,3)	3 (6,7)	0,8
Urobilinógeno	25 vs 46	5 (20)	2 (4,4)	0,035
Bilirrubina	25 vs 46	2 (8)	1 (2,2)	0,24
Leucocitos por campo				
≤5		6 (21,4)	14 (28,6)	
6-10	28 vs 49	2 (7,1)	7 (14,3)	0,53
11-20		6 (21,4)	11 (22,5)	
>20		14 (50)	17 (34,7)	
Hematíes por campo				
≤5		15 (68,2)	32 (82)	
6-10	22 vs 39	4 (18,2)	4 (10,3)	0,43
>10		3 (13,6)	3 (7,7)	
Bacterias por campo				
+		5 (18,5)	4 (8,2)	
++	27 vs 49	7 (25,9)	11 (22,5)	0,52
+++		14 (51,9)	31 (63,3)	
++++		1 (3,7)	3 (6,1)	
Moco en orina				
0		3 (13)	4 (8,3)	
+	23 vs 48	14 (60,9)	30 (62,5)	0,43
++		5 (21,7)	14 (29,2)	
+++		1 (4,35)	0	

Al analizar la información del antibiograma realizado a las cepas recolectadas tanto de los casos como de los controles, se evidenció que la mayor resistencia a antibióticos fue para: Ampicilina (67,6%), Ciprofloxacina (51,7%) y Trimetropin sulfametoxazol (TMS) (34%). Para la Nitrofurantoina y el Ácido Nalidíxico, otros antibióticos también muy usados en el tratamiento de infecciones urinarias, se encontró una resistencia del 10,7% y 43,1%, respectivamente. Llama la atención que la resistencia al antibiótico Cefuroxime fue más frecuente en los controles que en los casos ($p=0,04$) (Tabla 4).

Al evaluar el patrón fenotípico de la resistencia de las cepas de *E. coli* a los antibióticos durante el periodo de captación, se evidenció que la resistencia a Ertapenem fue muy baja entre los años 2015 y 2017 y luego aumentó considerablemente a 21,1% en el año 2018, mientras que para TMS se notó una tendencia a la disminución de la resistencia. En el caso del Ácido Nalidíxico se observó una disminución de la resistencia a la mitad entre los años 2015 y 2016. Sin embargo, no se pudo evaluar el sostenimiento de esta tendencia porque durante los años 2017 y 2018 no se determinó la resistencia a este antibiótico (Gráfico 1).

Tabla 4.
Resistencia a antibióticos de las cepas aisladas de los pacientes

Antibiótico	n Casos vs n controles	Casos	Controles	p
Ácido nalidíxico	17 vs 48	5 (29,4)	23 (47,9)	0,26
Amikacina	37 vs 112	0 (0)	2 (1,8)	1
Amoxicilina clavulanato	28 vs 72	12 (16,7)	4 (14,3)	1
Ampicilina	34 vs 108	22 (64,7)	74 (68,5)	0,3
Aztreonam	15 vs 41	5 (33,3)	8 (19,5)	0,3
Cefalotina	20 vs 62	10 (50)	38 (61,3)	0,32
Cefazolina	14 vs 42	2 (14,3)	12 (28,6)	0,5
Cefepime	26 vs 76	8 (30,8)	18 (23,7)	0,4
Cefotaxime	15 vs 58	2 (13,3)	7 (12,1)	0,5
Ceftazidima	23 vs 62	5 (21,7)	12 (19,4)	1
Ceftriaxona	30 vs 89	12 (40)	24 (27)	0,25
Cefuroxime	14 vs 40	1 (7,1)	15 (37,5)	0,04
Ciprofloxacina	34 vs 111	14 (41,2)	61 (55)	0,24
Ertapenem	26 vs 66	2 (7,7)	7 (10,6)	1
Gentamicina	32 vs 106	6 (18,8)	32 (30,2)	0,26
Imipenem	27 vs 78	0 (0)	6 (7,7)	0,1
Levofloxacina	13 vs 36	5 (38,5)	14 (38,9)	1
Meropenem	15 vs 34	0 (0)	5 (14,7)	0,3
Nitrofurantoina	34 vs 106	3 (8,8)	12 (11,3)	0,8
Piperacilina tazobactam	27 vs 86	1 (3,7)	6 (7)	1
TMS*	36 vs 111	13 (36,1)	27 (33,3)	0,9

*Trimetropin sulfametoxazol.

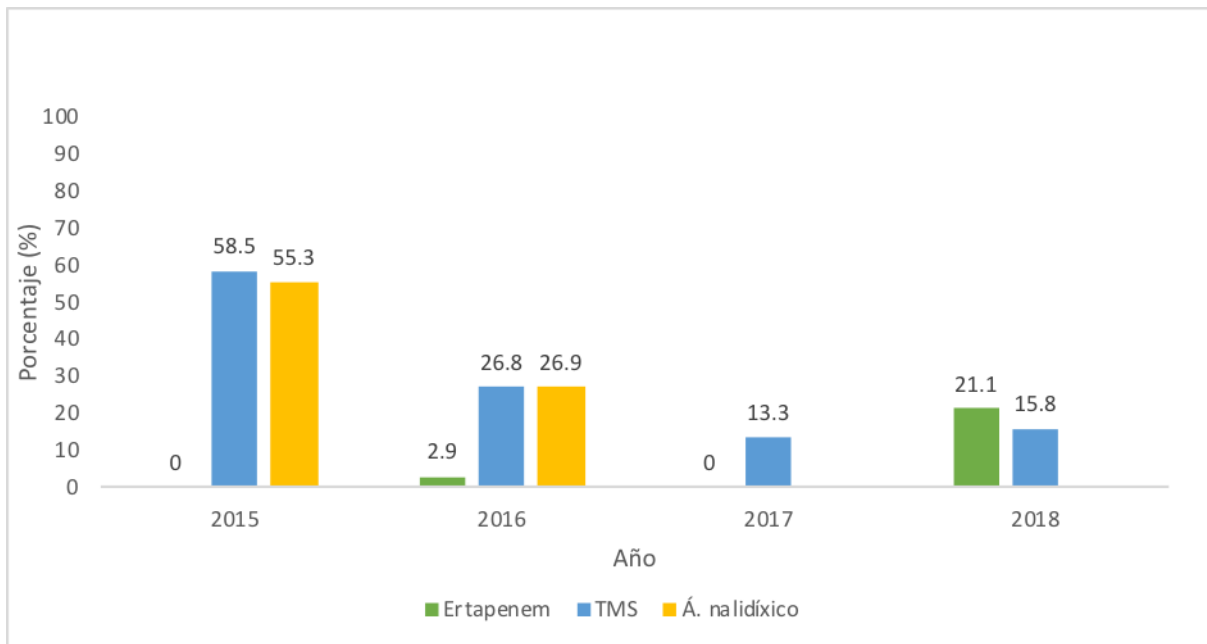


Gráfico 1. Variación de la resistencia a antibióticos por año de recolección de las cepas de *E. coli* analizadas.

Frecuencia de los genes *iutA*, *ireA* y *cvaC* en las cepas recolectadas de *E. coli* uropatógena según la presentación clínica de la infección urinaria:

Inicialmente, se hizo la estandarización de las pruebas de PCR en punto final para la detección de los genes *iutA*, *cvaC* e *ireA* en grupos de 5 cepas de *E. coli*. Se realizaron los gradientes de temperatura en la PCR y se determinó que la temperatura de anillamiento más adecuada para los genes *iutA* y *cvaC* fue de 63°C; y para el gen *ireA* fue de 54°C.

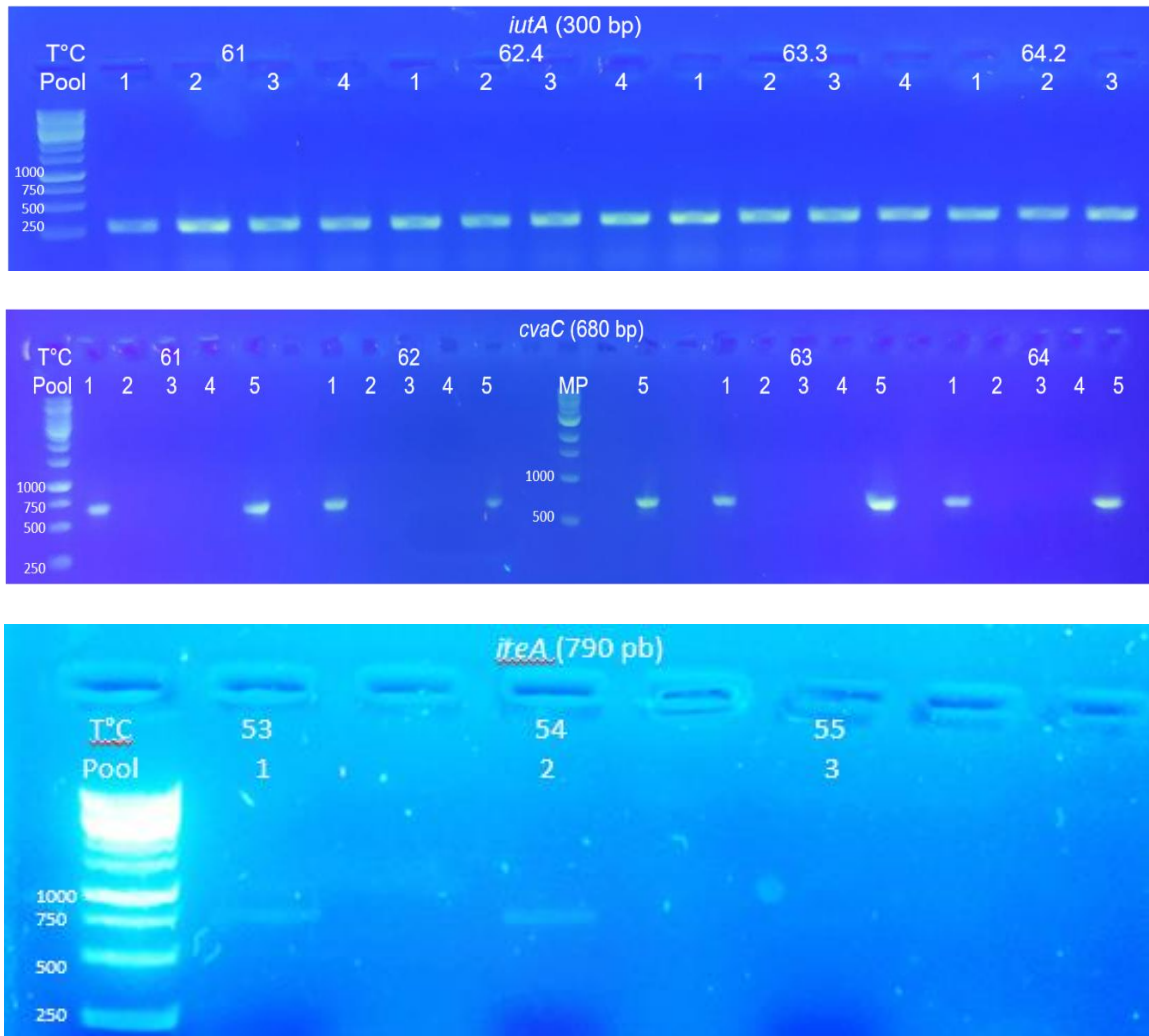


Figura 1. Estandarización de la PCR de punto final para la detección de los genes *iutA*, *cvaC* e *ireA* en cepas de *E. coli*.

De los tres genes estudiados, *iutA* fue el más frecuente, encontrándose en el 42,1% de las cepas de los casos y en el 48,3% de las de los controles ($p=0,58$). *ireA* se encontró en el 18,4% de las cepas de los casos y en el 17,5% de las de los controles ($p=1$). El gen de menor frecuencia fue *cvaC*, detectándose en el 10,5% de los casos y el 13,2% de los controles ($p=0,78$) (Gráfico 2).

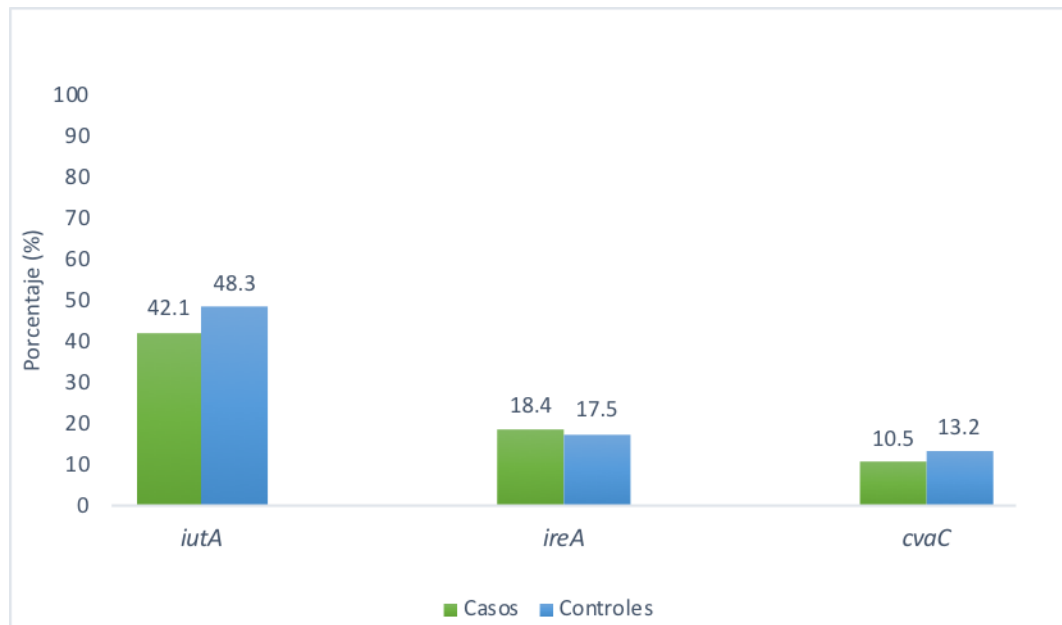


Gráfico 2. Proporción de los genes *iutA*, *ireA* y *cvaC* en los casos y controles de las cepas de *E. coli* analizadas.

Se realizó un análisis del número de genes que tenía cada cepa de *E. coli*, tanto en casos como en controles, y se halló que el 44,7% en ambos grupos no tenía ninguno de los tres genes analizados, un 39,5% de los casos tenía al menos un gen; un 15,8% de los casos tenía dos genes y ningún caso tenía los tres genes simultáneamente. Tampoco hubo diferencia significativa en la frecuencia de la cantidad de genes presentes entre las cepas aisladas de los casos y de los controles ($p=0,68$) (Gráfico 3).

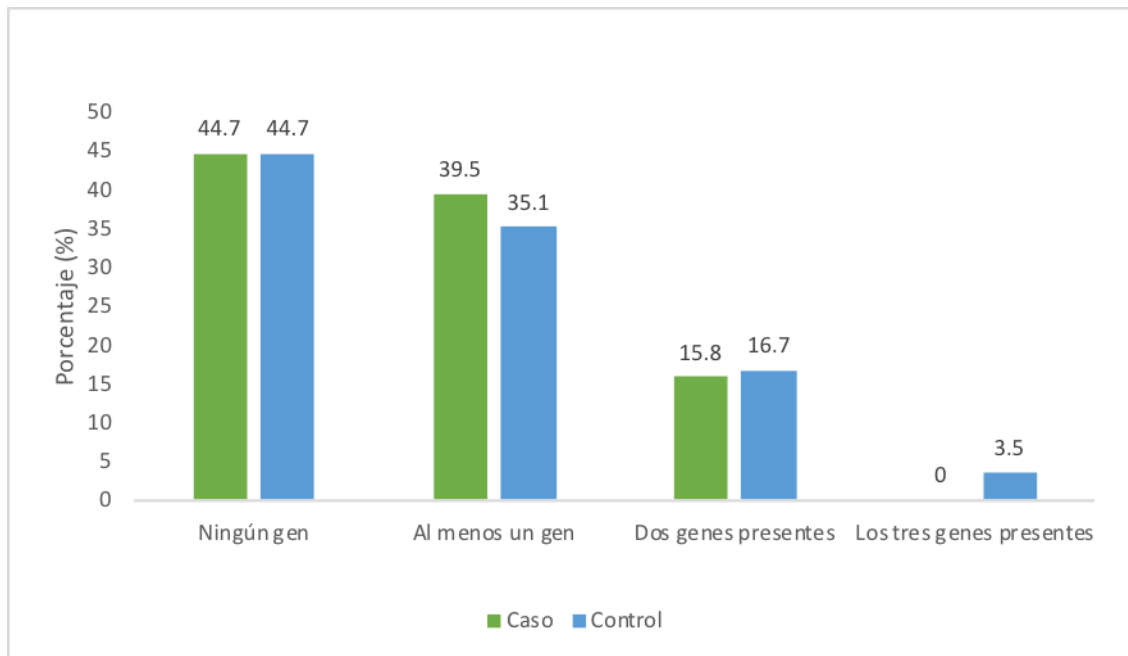


Gráfico 3. Cantidad de genes encontrados en las cepas de *E. coli* según casos y controles.

Adicionalmente, se analizó la presencia de los tres genes considerando tres grupos clínicos: urosepsis, pielonefritis y cistitis, y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ningún caso: *iutA* ($p=0,58$), *ireA* ($p=1$) y *cvaC* ($p=0,78$) (Gráfico 4). Tampoco hubo diferencia significativa en la cantidad de genes presentes entre los tres grupos ($p=0,90$), cuatro de las siete cepas de pacientes con urosepsis no presentaron ningún gen evaluado (57,1%) y tres presentaron sólo un gen (42,9%); trece de las treinta y una cepas de pacientes con pielonefritis no presentaron ningún gen (41,9%), doce presentaron un gen (38,7%) y seis presentaron dos genes (19,4%); y cincuenta y uno de ciento catorce cepas de pacientes con cistitis no tuvieron ningún gen (44,7%), cuarenta presentaron un gen (35,1%), diecinueve presentaron dos genes (16,7%) y cuatro presentaron los tres genes (3,5%).

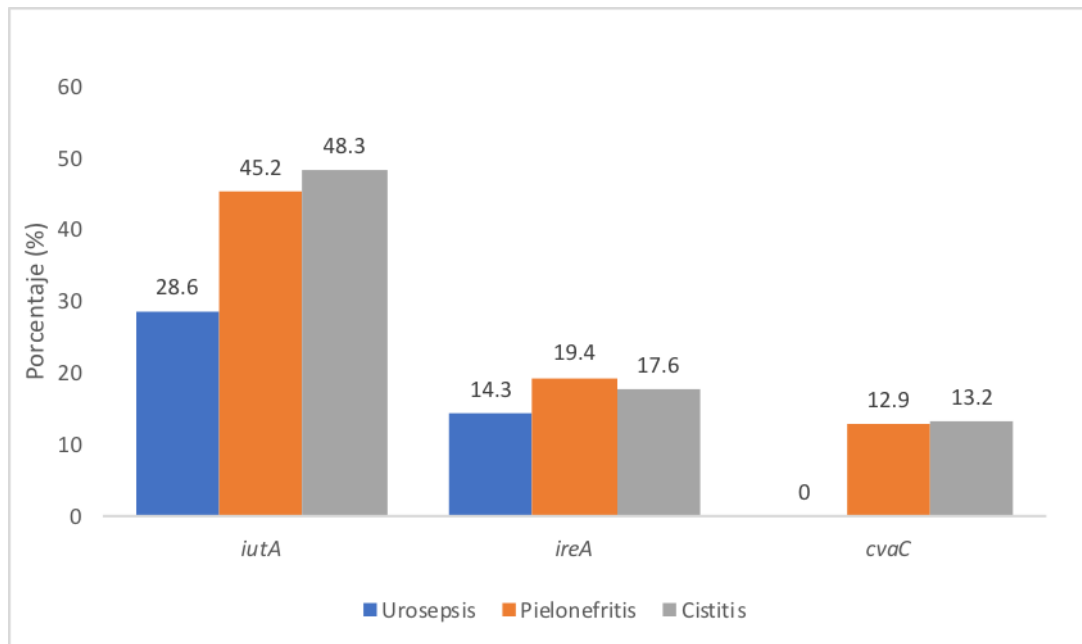


Gráfico 4. Proporción de los genes *iutA*, *ireA* y *cvaC* en las cepas de *E. coli* analizadas en los pacientes con urosepsis, pielonefritis y cistitis.

Relación de la presencia de *iutA*, *ireA* y *cvaC* de *E. coli* con la presentación clínica de la infección urinaria en la población estudiada.

No hubo asociación entre ninguno de los tres genes de *E. coli* y la presentación clínica de la enfermedad, *iutA* (OR ajustado por la variable sexo 0,78 IC95% 0,37 – 1,66; $p=0,52$), *ireA* (OR ajustado por la variable sexo 0,92 IC95% 0,35 – 2,47; $p=0,88$) y *cvaC* (OR ajustado por la variable sexo 0,74 IC95% 0,22 – 2,44; $p=0,62$). Sin embargo, ser hombre se asoció con mayor posibilidad de tener una ITU alta/urosepsis (OR 2,91 IC95% 1,10 – 77,69).

Adicionalmente, se realizó el análisis estadístico excluyendo aquellos controles (8 casos de cistitis) que referían dolor costovertebral en la consulta, pero que no tuvieron el signo de puño

percusión durante el examen físico, ya que este síntoma es característico de una ITU alta. Bajo este criterio, tampoco se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los casos y controles (*iutA*, $p=0,57$; *ireA*, $p=0,81$; *cvaC*, $p=0,78$).

Frecuencia de los genes *iutA*, *ireA* y *cvaC* en las cepas recolectadas de *E. coli* uropatógena según la resistencia a diferentes familias de antibióticos:

Adicionalmente, se realizó un análisis de resistencia por familias de antibióticos en relación con la presencia de los tres genes analizados en el estudio. Se halló una mayor resistencia a las penicilinas cuando estaba presente el gen *iutA* (Sensibles 29,8% vs Resistentes 55,1%; $p=0,004$), esto mismo se observó para las quinolonas de segunda generación (Sensibles 35,3% vs Resistentes 57,9%; $p=0,012$) (Tabla 5).

Además, se observó una tendencia, pero sin alcanzar la significancia estadística, en los siguientes casos: sensibilidad a penicilinas cuando el gen *ireA* está presente (Sensibles 27,7% vs Resistentes 12,2% $p=0,054$), y resistencia a aminoglucósidos (Sensibles 42,5% vs Resistentes 60,5% $p=0,062$) y a TMS (Sensibles 40,6% vs Resistentes 58,0% $p=0,055$) cuando está presente el gen *iutA* (Tabla 5).

También, se realizó un análisis de perfil de resistencia a cefalosporinas de cuarta generación en conjunto con el antibiótico Aztreonam, debido a que cuando hay resistencia a ambos grupos de antibióticos es sugestivo de la presencia de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en las cepas analizadas. 11 de las 43 cepas con información disponible presentaron resistencia a

estos dos antibióticos. El 20% de las cepas que tenían el gen *iutA*, el 14,3% de las que tenían el gen *ireA* y el 25% de las que tenían el gen *cvaC* eran potenciales portadoras de BLEE en comparación con el 28,6%, el 27,8% y el 25,6%, respectivamente que no presentaban estos genes ($p=0,22$).

Tabla 5.

Resistencia por familias de antibióticos y presencia de los tres genes estudiados en las cepas de *E. coli* aisladas de los pacientes.

Familias	Gen	n resistente/n total	n (%)	p
Cefalosporinas de 1ra generación	<i>iutA</i>	62/137	35 (56,5)	0,19
	<i>ireA</i>		10 (16,1)	0,79
	<i>cvaC</i>		7 (11,3)	0,52
Cefalosporinas 2da generación	<i>iutA</i>	16/54	8 (50)	0,77
	<i>ireA</i>		4 (25)	0,71
	<i>cvaC</i>		4 (25)	0,42
Cefalosporinas 3ra generación	<i>iutA</i>	39/128	18 (46,2)	1
	<i>ireA</i>		5 (12,8)	0,45
	<i>cvaC</i>		5 (12,8)	1
Cefepime	<i>iutA</i>	26/102	11 (42,3)	1
	<i>ireA</i>		2 (7,7)	0,10
	<i>cvaC</i>		3 (11,5)	0,26
Aztreonam	<i>iutA</i>	13/56	4 (41,9)	0,53
	<i>ireA</i>		2 (15,4)	1
	<i>cvaC</i>		2 (15,4)	0,62
Penicilinas	<i>iutA</i>	98/146	54 (55,1)	0,004
	<i>ireA</i>		12 (12,2)	0,054
	<i>cvaC</i>		13 (13,3)	1
Carbapenémicos	<i>iutA</i>	11/112	6 (54,6)	0,54
	<i>ireA</i>		4 (36,4)	0,09
	<i>cvaC</i>		1 (9,1)	1
Aminoglicósidos	<i>iutA</i>	38/151	23 (60,5)	0,062
	<i>ireA</i>		5 (13,2)	0,6
	<i>cvaC</i>		5 (13,2)	1
Ácido nalidíxico	<i>iutA</i>	28/65	15 (53,6)	0,13
	<i>ireA</i>		4 (14,3)	0,75
	<i>cvaC</i>		2 (7,1)	0,45
Quinolonas 2da gen	<i>iutA</i>	76/146	44 (57,9)	0,012
	<i>ireA</i>		12 (15,8)	0,36
	<i>cvaC</i>		11 (14,5)	0,70
Nitrofurantoina	<i>iutA</i>	15/140	7 (46,7)	1
	<i>ireA</i>		5 (33,3)	0,23
	<i>cvaC</i>		2 (13,3)	1
TMS	<i>iutA</i>	50/147	29 (58)	0,055
	<i>ireA</i>		9 (18)	0,85
	<i>cvaC</i>		5 (10)	1

2.1.2.1 Discusión. Este es el primer estudio en Colombia que determina la frecuencia de los genes de virulencia *iutA*, *ireA* y *cvaC* en cepas de *E. coli* uropatógena. Se evidenció una frecuencia de los tres genes analizados inferior al 50% tanto en casos como en controles y no se encontró asociación entre la presencia de ninguno de los tres genes y la presentación clínica de la ITU.

En nuestro estudio la mediana de edad de casos y controles fue de 50 y 55,5 años, respectivamente, y la proporción de pacientes del sexo femenino fue de 86,4%, siendo mayor en los controles. La proporción de pacientes que padecen de diabetes mellitus fue de 13,8% y el 64,5% presentaron ITU a repetición. De forma similar, en un trabajo realizado por Donkor y colaboradores en la ciudad de Accra, Ghana (África) sobre ITU adquiridas en comunidad, se determinó que la media de edad de los participantes fue de 37,2 ($\pm 17,6$) años y la mayoría de estos eran mayores a 50 años (75%), y el 79,8% de los pacientes eran mujeres. Sin embargo, nuestros resultados difieren respecto a los antecedentes, ya que sólo el 6,8% eran diabéticos y el 22,5% habían tenido una ITU previa. Además, en este estudio se encontró que el único factor de riesgo asociado a la presentación clínica de la ITU adquirida en comunidad fue el estado de embarazo ($p=0,02$) (Donkor, 2019). En el presente estudio las mujeres embarazadas fueron excluidas, por tanto, no evaluamos este factor, sin embargo, encontramos que el ser del sexo masculino se asoció a mayor posibilidad de ITU alta.

En Colombia, en una investigación realizada por Nocua y colaboradores sobre ITU adquirida en comunidad de pacientes diabéticos, se determinó que, de 68 pacientes, el 75% eran mayores de 50 años y el 81% eran mujeres. El síntoma más común fue la disuria (60,3%), seguido de

polaquiuria (38,2%); el 11,8% presentó hematuria, el 26,5% refirieron al menos un episodio de ITU previa y el 20,6% había usado un antibiótico en los últimos tres meses (Nocua, 2017). En nuestro estudio, la disuria y la hematuria se encontraron en mayor frecuencia (78,3% y 5,9%, respectivamente) al igual que el antecedente de ITU a repetición (64,5%), mientras que la frecuencia de polaquiuria fue similar (35,5%) así como el antecedente de uso de antibióticos en los últimos dos meses (27%).

En un estudio llevado a cabo por Blanco y colaboradores sobre ITU adquirida en comunidad, en pacientes atendidos en tres instituciones de tercer nivel en Bogotá y Cali con características demográficas similares a las nuestras, el 43,2% tuvieron ITU a repetición y el 21,8% eran diabéticos. Estas cifras son cercanas a las encontradas en nuestra población de estudio. Además, estos autores reportaron que el 12,5% de las cepas de *E. coli* uropatógena aisladas eran productoras de BLEE. En nuestro estudio, esta frecuencia fue mayor (25%), sin embargo, nosotros no realizamos pruebas confirmatorias de la presencia de estas betalactamasas (Blanco, 2016).

En cuanto a la presencia de los genes de virulencia evaluados en este proyecto, no encontramos investigaciones al respecto en Colombia. En nuestro estudio, los tres genes se encontraron en menor frecuencia en comparación con el trabajo desarrollado por Johnson y colaboradores en España, y a diferencia de ellos, nosotros no encontramos asociación entre la presencia de los genes y la presentación clínica de la ITU. Por ejemplo, en las cepas que analizamos, *ireA* se encontró en el 18,4% de los casos y en el 17,5% de los pacientes con cistitis, mientras que, en España, este gen se encontró en el 47% de las cepas aisladas de casos de

pielonefritis y el 13% de las cepas de los pacientes con cistitis. Para el gen *iutA* nuestra frecuencia en los casos fue menor (42,1%) que la encontrada por Johnson y colaboradores (71%), mientras que en los controles nuestra frecuencia fue de 48,3% comparado con el 35%. *cvaC* se detectó cerca de cuatro veces menos en nuestros casos (10,5% vs 41%) y en las cepas de cistitis la frecuencia fue similar a la de los controles (13,2% vs 9%). Aunque en el estudio español sólo incluyen mujeres, de la cuales no hay información acerca de la edad u otros antecedentes, creemos que las diferencias encontradas no se deben a la variable de sexo puesto que, al hacer un análisis estratificado por esta variable, las frecuencias de los genes no varían significativamente. Por lo tanto, esta discrepancia podría deberse a la presencia en ECUP de otros genes de virulencia determinantes en la presentación clínica de la enfermedad en las cepas que circulan en nuestra población, y a otras características del hospedero como presencia de comorbilidades que afecten el sistema inmunológico o el sistema urinario o antecedente de uso de antibióticos en el último trimestre.

Por otra parte, en un estudio realizado en México por López y copartícipes sobre factores de virulencia de *E. coli* aisladas de mujeres con cistitis adquirida en comunidad, se determinó que la frecuencia del gen *iutA* fue de 48,1% y la frecuencia del gen *cvaC* fue de 2,8%, aunque los porcentajes son similares a los hallados en nuestro estudio, estos autores no realizaron una comparación con casos de pielonefritis (López, 2014).

Se han publicado en la literatura otros dos trabajos para el gen *iutA*. En Corea del Sur, Lee y colaboradores, estudiaron cepas EXPEC y cepas comensales aisladas de hombres y mujeres, encontrando una frecuencia significativamente mayor en el primer grupo (65,8% vs 33,7%) (Lee,

2010). En el segundo estudio, Kudinha y colaboradores encontraron una frecuencia significativamente mayor de este gen en cepas aisladas de mujeres australianas con cistitis comparadas con cepas comensales (67% vs 12%) (Kudinha, 2012). Las frecuencias de estos genes en nuestro estudio se encuentran entre estos valores reportados por Kudinha, siendo más altas que la frecuencia en comensales, pero menores que la frecuencia de las cepas patógenas. Esta información motiva el planteamiento de futuros estudios en nuestra población para evaluar la hipótesis de si existe diferencia de la frecuencia de estos genes de virulencia entre las cepas comensales y las patógenas que circulan localmente.

Al respecto de la presencia de los genes *iutA* y *cvaC* codificados en el mismo plásmido (*ColV*), encontramos que la frecuencia de estos genes fue de 46,7% y 12,5%, respectivamente, y en conjunto se detectaron en el 10,5% de las cepas. Estas frecuencias individuales son similares a las reportadas por J. Jonhson en población española (54% y 17%, respectivamente) (Jonhson, et al, 2005), pero fueron menores a las encontradas en las cepas aviares estudiadas por T. Johnson (80%, 61% y en conjunto los dos genes, 22%) (Johnson, Siek, Johnson y Nolan, 2006).

Adicionalmente, en el presente estudio se evaluaron los perfiles de resistencia a antibióticos de las cepas recolectadas con esta información disponible. En el estudio realizado por Donkor y colaboradores, mencionado anteriormente, la mayor resistencia de *E. coli* a antibióticos se evidenció para Amoxicilina ácido clavulánico (93,4%), y aquellos para lo que se presentó menor resistencia fueron Cefuroxime y Amikacina (6,7%, en ambos casos). Nuestros resultados contrastan con esta información pues la resistencia al primer antibiótico fue de 16%, al segundo

fue de 29,6% y al último fue de 1,34%. Estos datos reflejan la diferencia del perfil de resistencia a antibióticos entre las dos poblaciones estudiadas (Donkor, 2019).

En un estudio realizado en Camerún en el año 2012 sobre etiología y susceptibilidad antibiótica de cepas aisladas de ITU adquirida en comunidad de dos poblaciones, Buea y Bamenda, se reportó perfiles de resistencia de ECUP diferentes en cada ciudad. Por ejemplo, en la población de Buea la mayor resistencia se dio a los antibióticos Nitrofurantoina (80%) y Ceftriaxona (65%), mientras que el 100% de los aislamientos fueron sensibles a Ciprofloxacina, TMS y Eritromicina. En Bamenda, la mayor resistencia se evidenció hacia los antibióticos: Ampicilina (73,9%), Ciprofloxacina (47,2%), TMS (82,6%), Eritromicina (60,9%), Gentamicina (56,5%) y Nitrofurantoína (56,5%) (Akoachere, 2012). Para el caso de la Nitrofurantoína, nuestros resultados contrastan con lo observado en las dos ciudades pues la resistencia a este antibiótico en nuestra población fue baja (Tabla 4). Para la Ciprofloxacina y la Ampicilina el comportamiento fue similar al observado en la segunda ciudad mencionada, mientras que el TMS tuvo un comportamiento intermedio con respecto a estas dos ciudades. Estos hallazgos podrían estar relacionados a un patrón diferencial de usos de antibióticos entre países e incluso entre ciudades en el mismo país.

En Singapore, en un estudio realizado por Bahadin y colaboradores en 2011, en que se recolectaron 248 aislamientos de ECUP de pacientes que presentaron ITU adquirida en comunidad, la mayor resistencia se presentó a los antibióticos Ampicilina (46,3%), Cefalotina, (38,6%) y TMS (37,8%), mientras que la menor resistencia se observó para Nitrofurantoína (5,3%), Piperacilina/Tazobactam (1,2%) y Ertapenem (0%) (Bahadin, 2011). En nuestro caso, se

obtuvieron resistencias a Ampicilina, Cefalotina, Nitrofurantoína, Piperacilina/Tazobactam y Ertapenem superiores (Tabla 4), mientras que para TMS fue similar (37,8 vs 34).

En otro estudio, realizado por Mamani y colaboradores en 2015 en Irán, donde se recolectaron datos de 2012-2013 de pacientes con ITU adquirida en comunidad causada por ECUP, se encontró que los antibióticos a los cuales los aislamientos presentaron más resistencia fueron TMS (57,8%), Ciprofloxacina (47,4%) y Ceftriaxona (40,3%), y los antibióticos para los cuales se evidenció menor resistencia fueron Nitrofurantoína (3,9%) y Gentamicina (7,8%) (Mamani, 2015). En contraste, en nuestro estudio, la resistencia a TMS fue menor, a Ciprofloxacina y Ceftriaxona fue similar, mientras que la resistencia a Nitrofurantoína y a Gentamicina fue casi tres y cuatro veces mayor, respectivamente.

Al respecto en Europa, en el año 2015, Kahlmeter y colaboradores, realizaron un estudio en el que recolectaron información de varios países de este continente de ECUP causante de cistitis adquirida en comunidad en población femenina y sus respectivos perfiles de resistencia. Los países de los cuales se recabó información fueron Francia, Alemania, España y Reino Unido, y el antibiótico para el cual se presentó la mayor resistencia fue Ciprofloxacina, oscilando entre 4,8% en Francia y 30,8% en España (Kahlmeter, 2015), contrastando con nuestros resultados donde para este antibiótico la resistencia fue de 51,7%.

Al compararnos con estudios latinoamericanos, nuestros perfiles de resistencia fueron similares, a los observados en Brasil por Dias y colaboradores en ITU adquirida en comunidad, para Ampicilina (59%), TMS (50%) y cefalotina (42%) (Dias, 2003). También, para algunos

antibióticos, nuestros resultados coinciden con los perfiles reportados en Colombia en población diabética con ITU adquirida en comunidad atendida en consulta externa en nueve hospitales del país (región no especificada en el estudio). En este estudio, la mayor resistencia de las cepas de ECUP fue a Ampicilina (65,5%), TMS (44,8%) y Ciprofloxacina (32,6%), y la menor resistencia fue a Amikacina (0%), Cefepime (0%) y Nitrofurantoína (5,2%) (Nocua, 2017). En nuestro estudio se obtuvieron porcentajes similares de resistencia para Ampicilina (67,7%), TMS (34%) y Amikacina (0%), mientras que, para Ciprofloxacina (51,7%), Cefepime (25,5%) y Nitrofurantoína (10,7%) fueron mayores.

Los hallazgos mencionados previamente, que ilustran una gran variabilidad de los perfiles de resistencia a antibióticos de las cepas de ECUP entre regiones, países y ciudades, reafirman la hipótesis de que el uso de antibióticos en el ámbito local influencia el perfil de susceptibilidad de las cepas circulantes.

Asimismo, se buscó información de la posible relación de alguno de los tres genes analizados en nuestro estudio y la resistencia a ciertos antibióticos. Al respecto, en un estudio realizado en la ciudad de Coimbra, Portugal, por Calhau y colaboradores, se analizaron 65 aislados de ECUP en búsqueda de posibles interacciones entre PAI, perfil de resistencia y adquisición de plásmidos. Estos autores analizaron 9 genes de virulencia y pudieron establecer que el gen *iutA* estaba presente en el 57% de las cepas analizadas y, además, este gen se encontró con mayor frecuencia en aquellos aislamientos resistentes a todos los antibióticos analizados: Amoxicilina-Ácido Clavulánico (67%), Ampicilina (58%), Cefalotina (70%), Cefotaxima (100%), Ceftazidima (100%), Ciprofloxacina (60%) y Gentamicina (79%) (Calhau, 2015).

Nuestros hallazgos concuerdan con los anteriores resultados puesto que encontramos una frecuencia significativamente mayor del gen *iutA* en las cepas resistentes a penicilinas (55,1%) y a quinolonas (57,9%), además, observamos una tendencia de mayor frecuencia en los aislamientos resistentes a aminoglucósidos (60,5%, $p=0,062$) y a cefalosporinas de primera generación (56,5%, $p=0,19$). Sin embargo, en el grupo de cefalosporinas de tercera generación no observamos este comportamiento ($p=1$).

Calhau y colaboradores sugieren que la alta frecuencia de este gen se debe a que *iutA*, que codifica para el receptor de la aerobactina (sistema de sideróforo), facilita el crecimiento de la bacteria en la orina que es un medio carente de hierro, en el cual los sistemas de captación de este metal son cruciales para el desarrollo de la ITU. Así mismo, los autores proponen que este gen fue más frecuente en aquellas cepas resistentes a todos los antibióticos debido a que es un gen contenido en el plásmido ColV que se cree que contiene determinantes de resistencia (Calhau, et al, 2015).

Al respecto, en un estudio realizado por Lee y colaboradores para determinar el grupo filogenético, factores de virulencia de cepas patógenas y comensales de *E. coli* y su asociación con BLEE, específicamente *bla_{CTX-M}*, hallaron que el gen *iutA* estaba en el 100% de aislamientos que tenían la betalactamasa *bla_{CTX-M-1-group}* ($p=0,003$). Además, acotan que es muy común encontrar que las cepas causantes de septicemia tienen el plásmido ColV en el que se encuentra el gen *iutA* y otros genes asociados a la resistencia al suero (Lee, 2010).

También, en un estudio realizado por Johnson y colaboradores sobre asociación entre multidrogoresistencia, contenido de plásmidos, factores de virulencia de ExPEC y cepas comensales de *E. coli* de humanos y aves de corral, se encontró una asociación positiva entre la presencia del gen *iutA* y la resistencia a Ampicilina, Tetraciclina y TMS en aquellas cepas de ECUP (Johnson, 2012). Nuestros resultados coinciden con el primer antibiótico porque, como se había mencionado anteriormente, hallamos una relación entre la presencia de este gen y la resistencia a penicilinas.

Dentro de las limitaciones del estudio se encuentra el hecho de que la clasificación clínica de la ITU se realizó según la información recabada de las historias clínicas de los pacientes atendidos en los centros de salud y se hizo evidente que la información no estaba completa en algunos casos, especialmente en el examen físico donde se registran los signos que se encuentran presentes, pero no aquellos ausentes, aunque se hayan evaluado. Asimismo, en las instituciones participantes en el estudio, cada individuo fue atendido por el médico de turno y aun cuando hay un formato electrónico establecido para la historia clínica del paciente, en ocasiones no se llenaba totalmente, obviándose cierta información relevante sobre los signos y síntomas presentados por el paciente para sustentar la clasificación de la infección. Adicionalmente, en algunos casos el resultado del parcial de orina no se encontraba disponible en el sistema de información, aunque se desconoce si fue porque no se realizó o porque no se hizo registro electrónico.

Otra limitación fue que el panel de antibióticos usado para medir la resistencia no fue igual para todos los aislamientos de la bacteria, lo que disminuyó el tamaño de la muestra para realizar

estos análisis estadísticos y comparar los diferentes grupos. Sin embargo, con la información disponible se evidenció la problemática de la resistencia a los antimicrobianos y la relación de uno de los genes evaluados con la resistencia a penicilinas y a quinolonas de segunda generación.

Finalmente, con la información obtenida en nuestro estudio logramos establecer que la frecuencia de los tres genes analizados difiere de la de otros países en los que se realizaron análisis similares. También, se pudo determinar que en nuestra población no existe asociación entre la presencia de alguno de estos tres genes y la presentación clínica de la enfermedad. Así mismo, se evidencia la necesidad de continuar investigando en nuestra población sobre otros genes de virulencia de ECUP, así como su perfil de resistencia a antibióticos.

3. Conclusiones

iutA fue el gen más frecuente en las cepas de ECUP de pacientes con ITU adquirida en la comunidad, seguido por *ireA* y *cvaC*. Estas frecuencias fueron menores a las reportadas en otros estudios similares en España, Corea del Sur y Australia.

No se encontró asociación entre la presencia de estos tres genes y la presentación clínica de la enfermedad, esta última evaluada en dos grupos como ITU alta (urosepsis o pielonefritis) o ITU baja (cistitis) o evaluada en tres grupos como urosepsis, pielonefritis y cistitis. Tampoco se

encontró asociación entre la cantidad de genes presentes en las cepas de ECUP y la presentación clínica de la enfermedad.

Ser hombre se asoció con mayor posibilidad de tener una ITU alta/urosepsis (OR 2,91 IC95% 1,10 – 77,69).

En el análisis del perfil de resistencia por familias de antibióticos relacionado con la presencia de los tres genes evaluados en el estudio, se halló una mayor frecuencia de resistencia a las penicilinas y a las quinolonas de segunda generación cuando el gen *iutA* está presente en las cepas de ECUP.

4. Recomendaciones

Según los resultados obtenidos, se plantea continuar con el estudio de la frecuencia de otros genes de virulencia de *E. coli* uropatógena que permitan establecer la asociación entre la presencia de los genes y la presentación clínica de la enfermedad para determinar biomarcadores de patogenicidad.

Además, se considera la importancia de realizar nuevos estudios comparativos de la presencia de estos genes de virulencia entre cepas patógenas causantes de ITU alta o baja y cepas comensales, para establecer si existe alguna diferencia entre ellas.

También se sugiere mejorar el registro de los signos y síntomas de los pacientes en las historias clínicas, así como de los hallazgos de laboratorio. Esta información permitiría aclarar la clasificación clínica de la infección para futuros estudios.

Tomando en cuenta estudios relacionados, se determinó que en nuestra población el porcentaje de pacientes con recurrencia de ITU es muy superior a lo reportado en otros países, por lo que se considera importante realizar nuevas investigaciones para estudiar los posibles factores asociados a esta condición.

Referencias Bibliográficas

- Agarwal, J., Srivastava, S., y Singh, M. (2012). Pathogenomics of uropathogenic *Escherichia coli*. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 30(2), 141-9. doi: 10.4103/0255-0857.96657
- Akoachere, J. F., Yvonne, N., Akum, N. H. y Seraphine, E. N. (2012). Etiologic profile and antimicrobial susceptibility of community-acquired urinary tract infection in two Cameroonian towns. *BMC Reser Not*, 5(219). 1-10. doi: 10.1186/1756-0500-5-219
- Alteri, C. J. y Mobley, H.L.T. (2007). Quantitative profile of the uropathogenic *Escherichia coli* Outer Membrane Proteome during growth in human urine. *Infection and Immunity*. 75(6). 2679-2688. doi: 10.1128/IAI.00076-07
- Bahadin, J., Teo, S.S. y Mathew, S. (2011). Aetiology of community -acquired urinary tract infection and antimicrobial susceptibility patterns of uropathogens isolated. *Singapore Med J*, 52(6). 415-420
- Bien, J., Sokolova, O., y Bozko, P. (2012). Role of Uropathogenic *Escherichia coli* Virulence Factors in Development of Urinary Tract Infection and Kidney Damage. *International Journal of Nephrology*. 1-15. doi:10.1155/2012/681473

- Blanco, V.M., Maya, J.J., Correa, A., Perenguez, M., Muñoz, J. S., Mota, G.,...Celis, Y. (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. *Enferm Infecc Micorbiol Clin*, 34(9). 559-565. doi: 10.1016/j.eimc.2015.11.017
- Bower, J.M., Eto, D. S., y Mulvey, M.A. (2005). Covert Operations of Uropathogenic *Escherichia coli* within the Urinary Tract. *Traffic*, 6(1). 18–31. doi:10.1111/j.1600-0854.2004.00251.x
- Calhau, V., Dominges, S., Ribeiro, G., Mendça, N. y Da Silva G. (2015). Interplay between pathogenicity island carriage, resistance profile and plasmid acquisition in uropathogenic *Escherichia coli*. *Jor of MEd Micro*, 2015(64). 828-835. doi: 10.1099/jmm.0.000104
- Cardona, J.A., Ramírez, C., Álvarez, S., Mena, D.M., e Higueta, L. F. (2014). Prevalencia de uropatógenos en los pacientes atendidos en un Hospital del Departamento de Antioquia-Colombia. *Archivos de medicina*, 10(1). 1-10. doi: 10.3823/1221
- Cascales, E., Buchanan, S.K., Duche, D., Kleanthous, C., Llobès, R., Postle, K.,...Cavard, D. Colicin Biology. (2007). *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 71(1). 158–229. doi:10.1128/MMBR.00036-06

- Dias, J.A., Martins, A. C., Da Silva, L. D., Tiraboschi, R. B., Domingos, A. L., Cologna A. J. y Tucci. S. (2003). Community acquired urinary tract infection: etiology and bacterial susceptibility. *Acta Cir Bras*, 8(5). 33-35.
- Dibua, U.M., Onyemerela, I.S., y Nweze, E.I. (2014). Frequency, urinalysis and susceptibility profile of pathogens causing urinary tract infections in Enugu State, Southeast Nigeria. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, 56(1). 55-59. doi: 10.1590/S0036-46652014000100008
- Donkor, E. S., Horlortu, P, Z., Dayie, N.T., Obeng-Nkrumah, N. y Labi, A-K. (2019). Community acquired urinary tract infections among adults un Accra, Ghana. *Infection and Drug Resistance*, 12. 2059-2067. doi:10.2147/IDR.S204880
- Emódy, L., Kerényi, M., y Nagy, G. (2003). Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 22, S29-S33. doi:10.1016/S0924-8579(03)00236-X
- Farfán-García, A. E., Zhang, C., Imdad, A., Arias-Guerrero, M.Y., Sánchez-Álvarez, N. T., Shah, R.,...Gómez-Duarte, O.G. (2017). *Inter J of Peadi*, 2017. 1-10. doi: 10.1155/2017/6357597
- Fernandez-Beros, M.E., Kissel, V., Lior, H., y Cabello, F.C. (1990). Virulence-Related Genes in Co1V Plasmids of *Escherichia coli* Isolated from Human Blood and Intestines. *Journal of Clinical Microbiology*, 28(4). 742-746. doi: 10.1038/nrmicro3432

- Flores-Mireles, A.L., Walker, J.N., Caparon, M. y Hultgren, S.J. (2015). Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms and infection and treatment options (review). *Nature Reviews Microbiology*, 13. 1-16.
- Foxman, B., y Brown, P. (2003). Epidemiology of urinary tract infections Transmission and risk factors, incidence, and costs. *Infect Dis Clin N Am*, 17. 227–241. doi: 10.1016/S0891-5520(03)00005-9
- Foxman, B. (2010). The epidemiology of urinary tract infection (review). *Nat. Rev. Urol*, 7. 653–660. doi:10.1038/nrurol.2010.190
- Garcia, E.C., Brumbaugh, A.R., y Mobley, H.L.T. (2011). Redundancy and Specificity of *Escherichia coli* Iron Acquisition Systems during Urinary Tract Infection. *Infection and Immunity*, 79(3). 1225–1235. doi: 10.1128/IAI.01222-10
- Gilson, L., Mahanty, H.K., y Kolter, R. (1984). Four Plasmid Genes Are Required for Colicin V Synthesis, Export, and Immunity. *Journal of Bacteriology*, 169(6). 2466-2470
- Grabe, M., et al. (2015). Guidelines on Urological Infections. European Association of Urology.
- Harding, G., y Ronald, A. (1994). The management of urinary infections: what have we learned in the past decade. *Int J Antimicrob Agents*, 4. 83–8.

- Henderson, J.P., Crowley, J.R., Pinkner, J.S., Walker, J.N., Tsukayama, P., Stamm, W.E., Hooton, T.M., y Hultgren, S.J. (2009). Quantitative Metabolomics Reveals an Epigenetic Blueprint for Iron Acquisition in Uropathogenic *Escherichia coli*. *PLoS Pathogens*, 5. doi: 10.1371/journal.ppat.1000305.t001
- Johnson, J. R., Kuskowski, M. A., Gajewski, A., Soto, S., Horcajada, J.P., Jimenez de Anta, M. T., y Vila, J. (2005). Extended Virulence Genotypes and Phylogenetic Background of *Escherichia coli* Isolates from Patients with Cystitis, Pyelonephritis, or Prostatitis. *The Journal of Infectious Diseases*, 191. 46–50. doi: 10.1086/426450
- Johnson, J. R., y Stell, A.L. (2000). Extended Virulence Genotypes of *Escherichia coli* Strains from Patients with Urosepsis in Relation to Phylogeny and Host Compromise. *The Journal of Infectious Diseases*, 181, 261–72. doi: 10.1086/315217
- Johnson, T. J., Logue, C. M., Johnson, J. R., Kuskowski, M. A., Sherwood, J. S., Barnes, H. J...Nolan, L.K. (2012). Associations Between Multidrug Resistance, Plasmid Content, and Virulence Potential Among Extraintestinal Pathogenic and Commensal *Escherichia coli* from Humans and Poultry. *Food path and Dis*, 9(1). 37-46. doi: 10.1089/fpd.2011.0961
- Johnson, T. J., Siek, K. E. Johnson, S. J. y Nolan, L. K. (2006). DNA Sequence of a ColV plasmid and prevalence of selected plasmid-encoded virulence genes avian *Escherichia*

- coli* strains. *Journal of bacteriology*, 188(2). 745-758. doi: 10.1128/JB.188.2.745–758.2006
- Kahlmeter, G., Åhman, J. y Matuschek, E. (2015). Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* Causing Uncomplicated Urinary Tract Infections: A European Update for 2014 and Comparison with 2000 and 2008. *Infect Dis Ther*, 4. 417-423. doi: 10.1007/s40121-015-0095-5
- Kot, B. (2017). Virulence Factors and Innovative Strategies for the Treatment and Control of Uropathogenic *Escherichia coli*. doi: 10.5772/67778
- Kudinha, T., Kong, F., Johnson, J.R., Andrew, S.D., Anderson, P., y Gilbert, G.L. (2012). Multiplex PCR-Based Reverse Line Blot Assay for Simultaneous Detection of 22 Virulence Genes in Uropathogenic *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 78 (4), 1198–1202. doi: 10.1128/AEM.06921-11
- Laupland, K.B., Ross, T., Pitout, J.D., Church, D.L., y Gregson, D.B. (2007). Community-onset Urinary Tract Infections: A Population-based Assessment. *Infection*, 35 (3), 150–153. doi: 10.1007/s15010-007-6180-2
- Lavigne, J-P., Bruyère, F., Bernard, L., Combescure, C., Ronco, E., Lanotte, P.,...Sotto, A. (2016). Resistance and virulence potential of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from patients hospitalized in urology departments: a French prospective

- multicentre study. *Journal of Medical Microbiology*, 65, 530–537. doi: 10.1099/jmm.0.000247
- Lee, H. S. y Le, J. (2018). Urinary tract infections. *Infct Dis*. 1-28.
- Lee, S., Yu, J.K., Park, K., Oh, E-J., Kim, S-Y., y Park, Y-J. (2010). Phylogenetic Groups and Virulence Factors in Pathogenic and Commensal Strains of *Escherichia coli* and Their Association with bla_{CTX-M}. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 40 (4), 361-367.
- Li, Y., Dai, J., Zhuge, X., Wang, H., Hu, L., Ren, J.,...Tang, F. (2016). Iron-regulated gene *ireA* in avian pathogenic *Escherichia coli* participates in adhesion and stress-resistance. *BMC Veterinary Research*, 12(167). 1-10. doi: 10.1186/s12917-016-0800-y
- Litwin, M.S., Saigal, C.S., Yano, E.M., Avila, C., Geschwind, S.A., Hanley, J.M.,...Wang, M. (2005). Urologic diseases in America project: analytical methods and principal findings. *The Journal of Urology*, 173. 933-937. doi: 10.1097/01.ju.0000152365.43125.3b
- Lo, A. W., Moriel, D. G., Phan, M., Schulz, B.J., Kidd, T. J., Beatson, S.S., y Schembru, M.A. (2017). ‘Omic’ Approaches to Study Uropathogenic *Escherichia coli* Virulence (review). *Trends in Microbiology*, 25(9), 729-740. doi: 10.1016/j.tim.2017.04.006
- López, D.A., Carrillo, E. M., Leyva, M., Orozco, G., Manjarrez, A.H., Arroyo, S.,...Hernández, R. (2014). Identification of Virulence Factors Genes in *Escherichia coli* Isolates from

- Women with Urinary Tract Infection in Mexico. *BioMed Reser Inter*, 2014, 1-10. doi: 10.1155/2014/959206
- Lozano, J. A. (2003). Infecciones de tracto urinario. *Amb Far*, 22(11). 96-100.
- Mamani, M., Nobari, N., Alikhani, M. Y. y Poorlajal, J. (2015). Antibacterial susceptibility of *Escherichia coli* among outpatients with community-acquired urinary tract infection in Hamadan, Iran. *J of Glob Anti Rest*, 3. 40-43. doi: 10.1016/j.jgar.2015.01.003
- Marrs, C. F., Zhang, L., y Foxman, B. (2005). *Escherichia coli* mediated urinary tract infections: Are there distinct uropathogenic *E. coli* (UPEC) pathotypes? (Minireview). *FEMS Microbiology Letters*, 252. 183–190. doi: 10.1016/j.femsle.2005.08.028
- Mulvey, M.A., Schilling, J.D., Martinez, J.J., y Hultgren, S.J. (2000). Bad bugs and beleaguered bladders: Interplay between uropathogenic *Escherichia coli* and innate host defenses. *PNAS*, 97(16). 8829–8835.
- Naves, P., et al. (2008). Correlation between virulence factors and *in vivo* biofilm formation by *Escherichia coli*. *Microbial Pathogenesis*, 45. 86-91. doi: 10.1016/j.micpath.2008.03.003
- Nocua, L.C., Cortés, J.A., Leal, A. L., Arias, G, F., Ovalle, M. V., Saavedra, S. Y.,...Castro, B. (2017). Perfil de sensibilidad antimicrobiana de microorganismos causantes de

- infecciones urinarias adquiridas en la comunidad en pacientes con diabetes mellitus Colombia. *Biomed*, 37. 353-360. doi:10.7705/biomedica.v34i2.3348
- Observatorio de Salud Pública de Santander. (2015). Perfil de morbilidad y mortalidad en Santander (No. 3). Recuperado de <http://web.observatorio.co/>
- Ochoa, T.J., y Gómez-Duarte, O.G. (2016). Antibiotic Resistance in *Escherichia coli*. En A. G. Torres. (Ed.), *Escherichia coli in the Americas*. (pp. 301-322). Gewerbestrasse: Springer.
- Organización Mundial de Salud (2014). Antimicrobial Resistance. Global Report of Surveillance. Recuperado de: <https://apps.who.int/>
- Orrego, C.P, Henao, C.P., y Cardona, J.A. (2014). Prevalencia de infección urinaria, uropatógenos y perfil de susceptibilidad antimicrobiana. *Acta Médica Colombiana*, 39(4).352-358.
- Russo, T.A., Carlino, U.B., y Johnson, J.R. (2001). Identification of a New Iron-Regulated Virulence Gene, *ireA*, in an Extraintestinal Pathogenic Isolate of *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*, 69(10). 6209-6216. doi: 10.1128/IAI.69.10.6209–6216.2001
- Russo, T. A., y Johnson, J.R. (2000). Proposal for a New Inclusive Designation for Extraintestinal Pathogenic Isolates of *Escherichia coli*: ExPEC. *The Journal of Infectious Diseases*, 181. 1753–4.

- Russo, T.A., McFadden, C.D., Carlino-McDonald, U.B., Beanan, J.M., Olson, R., y Wilding, G.E. (2003). The siderophore receptor *IroN* of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* is a potential vaccine candidate. *Infection and Immunity*, 71(12). 7164–7169. doi: 10.1128/IAI.71.12.7164-7169.2003
- Scholes, D., Hooton, T. M., Roberts, P.L, Gupta, K., Stapleton, A.E., y Stamm, W.E. (2005). Risk factors associated with acute pyelonephritis in healthy women. *Annals of Internal Medicine*, 142(1) 20–27.
- Sweileha W.M., Al-Jabib, S.W., Zyoudb, S.H., Ansam F. Sawalhaa, A.F., y Abu-Tahaa, A.S. (2018). Global research output in antimicrobial resistance among uropathogens: A bibliometric analysis (2002–2016). *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 13. 104–114. doi: 10.1016/j.jgar.2017.11.017
- Tarchouna, M., Ferjani, A., Ben-Selma, W., y Boukadida, J. (2013). Distribution of uropathogenic virulence genes in *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infection. *International Journal of Infectious Diseases*, 17. e450–e453. doi.org/10.1016/j.ijid.2013.01.025
- Terlizzi, M.E., Gribaudo, G., y Maffei, M. E. (2017). UroPathogenic *Escherichia coli* (UPEC) infections: virulence factors, bladder responses, antibiotic, and non-antibiotic antimicrobial strategies (review). *Front. Microbiol*, 8. 1-23. doi: 10.3389/fmicb.2017.01566

- Wagenlehner, F. M., Wullt, B., y Perletti, G. (2011). Antimicrobials in urogenital infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38S. 3– 10. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2011.09.004
- Welch, R. A., Burland, V., Plunkett, G., Redford, P., Roesch, P., Rasko, D.,...Blattner, F. R. (2002). Extensive mosaic structure revealed by the complete genome sequence of uropathogenic *Escherichia coli*. *PNAS*, 99 (26). 17020–17024. doi: 10.1073/pnas.25252979
- Wiles, T. J., Kulesus, R.R., y Mulvey, M. A. (2008). Origins and virulence mechanisms of uropathogenic *Escherichia coli*. *Experimental and Molecular Pathology*, 85, 11–19. doi: 10.1016/j.yexmp.2008.03.007
- Zhang, L., y Foxman, B. (2003). Molecular epidemiology of *Escherichia coli* mediated urinary tract infections. *Front. Biosci*, 8, e235– e244.

Apéndices

A. Aval del Comité de Ética de la Investigación de la E.S.E. ISABU



SUBDIRECCIÓN CIENTÍFICA	2000.39,01
COMUNICACIONES	Página 1/1

Bucaramanga, 02 de Julio de 2015

Señores
UNIVERSIDAD DE SANTANDER - UDES
Atte Dra. LIBETH YAJAIRA CRIADO
Docente Investigadora
Programa de Bacteriología
Campus Lagos del Cacique
Floridablanca

Firma _____
Radicado 00005828
Enviado 03/07/2015 - 7:20 a.m
abenitez
ESE ISABU



ASUNTO: CONCEPTO DEL COMITÉ DE ÉTICA EN LA INVESTIGACIÓN DE LA ESE ISABU

Atentamente le informo que ante el Comité de Ética en la Investigación de la ESE ISABU, desarrollado el día 17 de Junio de 2015, se presentó para su análisis y concepto técnico la siguiente investigación.

"Asociación entre los genes *sfa/foc* y *fyuA* de *Escherichia coli* con ITU-AC alta en adultos de la Zona Metropolitana de Bucaramanga"

Se emite **CONCEPTO FAVORABLE** sobre la investigación

Se aclara que la financiación del proyecto (gastos de manejo, toma de muestras, análisis y transporte) corresponde a la institución educativa y/o investigadores.

Adicional a lo anterior, se requiere que la institución educativa defina la persona que estará recolectando la información clínica de los pacientes y según lo que se mencionó en la reunión del comité es un estudiante de medicina que pertenece al semillero de investigación, con el fin de darlo a conocer entre el personal de la ESE ISABU.

Agradezco para fines de su ejecución y solicitud de información, coordinar con la Dra Lina Peñaranda de Villamizar - Coordinadora del Laboratorio Clínico en la ESE ISABU.

Como requisito al finalizar el estudio, se deberá hacer entrega formal de los resultados a esta dependencia

Adicionalmente, en caso que alguna persona de la ESE ISABU participe dando apoyo a la misma, se le deben dar los créditos a que tenga derecho según la labor que haya realizado y la normatividad establecida para tal fin.

Atentamente,

HORBES BRANLING BUITRAGO MATEUS
Subdirector Científico
ESE ISABU

Proyectó y Elaboro GLORIA MARCELA PLAZAS REY
Apoyo Profesional Subdirección Científica
Convenios Docencia Servicio

Copia Dra Lina Peñaranda de Villamizar - Coordinadora del Laboratorio Clínico ESE ISABU



Carrera 9 Calle 12 Norte HOSPITAL LOCAL DEL NORTE
Conmutador. 6405757 Fax 6405929
Email: subdireccioncientifica@eseisabu.gov.co

B. Contrapartida Universidad Industrial de Santander - Universidad de Santander del proyecto Marco.

4110
Bucaramanga, 13 1 JUL 2014



Doctor
CESAR AUGUSTO SERRANO NOVOA
Vicerrector de Investigaciones
Universidad de Santander
Ciudad

Ref. Presentación de la propuesta a la convocatoria Interna Periodo I-2014

Apreciados señores,

Amablemente presentamos a consideración de La Universidad de Santander, el Proyecto de Investigación titulado: "*Asociación entre los genes *sfa/foc* y *fyuA* de *Escherichia coli* con ITU-AC alta en adultos de la zona Metropolitana de Bucaramanga*", propuesto por la Universidad de Santander con la participación de la profesora Clara Isabel González Rugeles, adscrita a la Escuela de Microbiología de la Universidad Industrial de Santander.

Así mismo, me permito indicar que en caso de ser aprobado el proyecto, la Universidad Industrial de Santander realizará un aporte de contrapartida NO desembolsable por valor de VEINTITRÉS MILLONES, NOVECIENTOS CUATRO MIL PESOS (\$23.904.000), correspondiente a aportes en los rubros de Recurso Humano por las horas de dedicación de la Dra. Clara González al proyecto en mención, tal y como se indica en la propuesta.

Cordialmente,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Jaime', is positioned above the typed name of the representative.

Firma del Representante Legal de la Entidad o su delegado
Nombre Jaime Enrique Meneses Fonseca
Vicerrector de Investigación y Extensión
Universidad Industrial de Santander
Dirección de correspondencia: Carrera 27 calle 9, Bucaramanga Colombia
Teléfono: 634-4000 Ext 2220

VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN
Desarrollando el futuro / Developing the future
Ciudad Universitaria, Carrera 27 Calle 9, Edificio 6, Administración 2, piso 5o.
PBX (57) 7 6344000, Ext. 2220, TELEFAX (57) 7 6451467
Apartado Aéreo 678 Bucaramanga, Colombia
E-mail: vie@uis.edu.co <http://www.uis.edu.co>



C. Aval del Grupo de Investigación de Inmunología y Epidemiología Molecular (GIEM).

Bucaramanga, 21 de diciembre de 2017

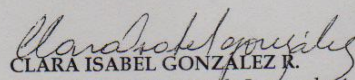
SEÑORES
COMITÉ ASESOR DE PROGRAMAS DE POSGRADO
MAESTRÍA EN MICROBIOLOGÍA
ESCUELA DE MICROBIOLOGÍA
UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
PRESENTE

Respetados miembros del Comité Asesor del Posgrado de la Escuela de Microbiología:

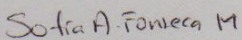
Sirva la presente como aval del Grupo de Inmunología y Epidemiología Molecular (GIEM) de la Universidad Industrial de Santander dado a la aspirante SOFÍA ALEJANDRA FONSECA MARTÍNEZ titular de la cédula de 1'098.641.800 de Bucaramanga para que, en condición de estudiante regular de la Maestría en Microbiología desarrolle el trabajo de grado, en el seno de esta agrupación científica.

GIEM se compromete a apoyar el proyecto de investigación de la estudiante y a coadyuvar en el fortalecimiento de las condiciones para el desarrollo del trabajo de grado.

Cordialmente,


CLARA ISABEL GONZALEZ R.

Grupo de investigación de Inmunología y Epidemiología Molecular


SOFÍA ALEJANDRA FONSECA M.
C.C. 1'098.641.800
Aspirante a Maestría en Microbiología

Copia: Giovanna Rincón, Coordinador de Maestría en Microbiología