

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**  
**FACULTAD DE MEDICINA Y NUTRICIÓN**  
**COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**



**DETECCIÓN DE GENES SHV, TEM Y CTX-M EN CEPAS DE  
ENTEROBACTERIAS  $\beta$ -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE)  
DE LA COMUNIDAD DE MEXICALI**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

**DOCTORADO EN CIENCIAS EN BIOMEDICINA**

P R E S E N T A:

**M. en C. DOLORES ANGÉLICA MÁRQUEZ SALAZAR**

DIRECTOR DE TESIS:

**Dr. JONATHAN ISAAC ARAUZ CABRERA**

**Mexicali, Baja California**

**Diciembre 2025**

## Carta de dictamen de Evaluación Escrita del Examen de Grado



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA  
FACULTAD DE MEDICINA Y NUTRICIÓN  
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

### CARTA DE DICTAMEN DE LA EVALUACIÓN DE LA FASE ESCRITA DEL TRABAJO TERMINAL

Mexicali, B.C., a 03 de diciembre de 2025.

Los abajo firmantes, miembros del Jurado Dictaminador del trabajo terminal titulado "DETECCIÓN DE GENES SHV, TEM Y CTX-M EN CEPAS DE ENTEROBACTERIAS  $\beta$ -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE) DE LA COMUNIDAD DE MEXICALI", que, para obtener el Diploma de Grado de Doctorado en Ciencias en Biomedicina, presenta la C. Dolores Angelica Márquez Salazar, una vez concluida la evaluación correspondiente, hemos resuelto aprobarlo.

Dr. Jonathan Isaac Arauz Cabrera  
Presidente

Dr. Gerson Ney Hernández Acevedo  
Secretario

Dra. Raquel Muñiz Salazar  
Sinodal

Dr. Gilberto López Valencia  
Sinodal

Dr. Armando Ruiz Hernández  
Sinodal

## **Agradecimientos**

Al mirar el camino recorrido, siento un profundo agradecimiento hacia todas las personas que me acompañaron en los momentos más significativos de esta etapa de formación. Cada paso estuvo marcado por el apoyo, la guía y la confianza de quienes creyeron en mí y en este proyecto.

Primeramente, deseo expresar mi más sincero reconocimiento a mi director de tesis, Dr. Jonathan Arauz, por su guía constante durante estos 3 años, por facilitar tantos procesos y brindarme un acompañamiento que hizo más llevadero y enriquecedor este camino académico.

Asimismo, agradezco profundamente a los miembros de mi comité de tesis: Dr. Gerson Hernández, Dra. Raquel Muñoz, Dr. Gilberto López y Dr. Armando Ruiz, cuyas observaciones, conocimientos y sugerencias enriquecieron de manera invaluable este trabajo. Su paciencia, disposición y compromiso con mi formación fueron fundamentales para que este proyecto tomara forma.

Extiendo también mi gratitud a quienes, con sus enseñanzas y consejos, orientaron aspectos esenciales de esta investigación. Al Dr. Donato Rechy, por su invaluable colaboración y por las enseñanzas brindadas en el Departamento de Microbiología y Parasitología Clínica de la Facultad de Medicina y Nutrición. Al Dr. Edwin Barrios, por su apoyo decisivo y por abrirme las puertas del Laboratorio de Biología Molecular y Genómica de la UNISON durante mi estancia de investigación. Al Dr. Rafael Miranda, cuyos consejos y acompañamiento en la recolección de muestras fueron clave para avanzar en este estudio. Sin la ayuda y colaboración de cada uno de ustedes, este proyecto no habría sido posible.

A mis compañeros de posgrado, gracias por compartir estos tres años de trabajo, aprendizaje y crecimiento. Su perseverancia y compañía hicieron de este trayecto una experiencia significativa y profundamente humana.

Agradezco también a todos los médicos pasantes del Departamento de Farmacología a los que tuve el gusto de conocer, quienes no solo me acompañaron durante estos años, sino que fueron un apoyo vital para cumplir los objetivos en el tiempo estimado.

A la Universidad Autónoma de Baja California (UABC), mi alma mater, gracias por sembrar en mí la curiosidad, el compromiso y el impulso para explorar nuevos horizontes académicos y profesionales.

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), mi más grande agradecimiento por el apoyo económico brindado durante el doctorado, sin el cual este proyecto no habría podido realizarse.

Finalmente, a todas aquellas personas que, con sus palabras de aliento, sus sonrisas, y su calidez, contribuyeron de forma directa o indirecta a que siguiera adelante, incluso en los momentos más desafiantes: gracias. Las palabras no alcanzan para expresar la magnitud de mi gratitud. En cada logro de esta tesis, hay un pedacito de ustedes.

## **Dedicatoria**

Dedico este trabajo a mi familia, cuya fortaleza, amor y apoyo incondicional han sido mi mayor inspiración. Gracias por enseñarme que los sueños se alcanzan con esfuerzos, constancia y fé.

A mi madre, por su sacrificio constante y por demostrarme, con su ejemplo, que la educación transforma vidas. A mi padre, que me sigue guiando con amor día a día, y siempre me alentó a seguir mis sueños. A mis hermanos, por su apoyo en cada etapa del camino, Gracias por creer en mí, incluso cuando dudaba, Gracias por motivarme y recordarme quien soy y de que soy capaz,

## **Abreviaturas**

**ADN:** Ácido desoxirribonucleico

**AM:** Ampicilina

**AME:** Enzima modificadora de Aminoglucósidos (Aminoglycoside Modifying Enzyme)

**AN:** Amikacina

**AST:** Agar Soya Trypticaseína

***bla*:** gen de  $\beta$ -lactamasa

**BLEE:**  $\beta$ -lactamasa de Espectro Extendido

**CANWARD:** Canadian Antimicrobial Resistance Alliance

**CA-UTI:** Infecciones del tracto urinario adquiridas en la comunidad (Community-acquired urinary tract infections)

**CAZ:** Ceftazidima

**CDC:** Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (Centers for Disease Control and Prevention)

**CEF:** Cefalotina

**CIP:** Ciprofloxacina

**CLSI:** Instituto de Estándares clínicos y de laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute)

**CMI:** Concentración mínima inhibitoria

**CST:** Caldo Soya Trypticaseína

**CRO:** Ceftriaxona

**CTX:** Cefotaxima

**CTX-M:** Cefotaximasa tipo M

**CXM:** Cefuroxima

**ERIC-PCR:** Reacción en cadena de la polimerasa de consenso intergénico repetitivo para enterobacterias (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus-PCR)

**EU:** Unión Europea (European Union)

**EUCAST:** Comité Europeo de Pruebas de Susceptibilidad a Antimicrobianos (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing)

## **Abreviaturas (continuación)**

**FEP:** Cefepima

**FOS:** Fosfomicina

**FT:** Nitrofurantoína

**GLASS:** Sistema Mundial de Vigilancia de la Resistencia y el uso de Antimicrobianos (Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System)

**GM:** Gentamicina

**GPC:** Guías de Práctica Clínica

**IAAS:** Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud

**IDSA:** Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (Infectious Diseases Society of America)

**INVIFAR:** Red Temática de Investigación y Vigilancia de la Farmacorresistencia

**iTOL:** Interactive Tree of Life

**ITU:** Infecciones del tracto urinario

**LEV:** Levofloxacina

**MALDI-TOF:** Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time Of Flying

**MDR:** Multidrogorresistencia

**MGE:** Elementos genéticos móviles

**MLST:** Tipificación de Secuencia de Múltiples Loci (Multilocus Sequence Typing)

**OMS:** Organización Mundial de la Salud

**PBP:** Proteínas de unión a penicilinas (Penicillin binding proteins)

**PCR:** Reacción en cadena de la Polimerasa (Polimerase Chain Reaction)

**PFGE:** Electroforesis en gel de campos pulsados (Pulsed Field Gel Electrophoresis)

**PMQR:** Resistencia a quinolonas mediada por plásmido

**PUCRA:** Plan Universitario de Control de la Resistencia Antimicrobiana

**QRDR:** Región determinante de resistencia a quinolonas (Quinolone Resistance-Determining Region)

**RAM:** Resistencia Antimicrobiana

**SAM:** Ampicilina / Sulbactam

**SHV:** Sulfhidril variante

### **Abreviaturas (continuación)**

**ST:** Secuenciotipo

**SXT:** Trimetoprima / Sulfametoxazol

**TEM:** Temoniera

**TZP:** Piperacilina / Tazobactam.

**UPEC:** *Escherichia coli* Uropatógena (Uropathogenic *Escherichia coli*)

**UPGMA:** Método de Agrupamiento de Pares no Ponderados con Media Aritmética  
(Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean)

**WGS:** Secuenciación de genoma completo (Whole genome sequencing)

<b>Contenido</b>	<b>Pag.</b>
<b>Carta de dictamen de la Evaluación Escrita del Examen de Grado</b>	<b>i</b>
<b>Agradecimientos</b>	<b>ii</b>
<b>Dedicatoria</b>	<b>iv</b>
<b>Abreviaturas</b>	<b>v</b>
<b>Contenido</b>	<b>viii</b>
<b>Índice de Tablas</b>	<b>xii</b>
<b>Índice de Figuras</b>	<b>xiii</b>
<b>Resumen</b>	<b>xiv</b>
<b>Abstract</b>	<b>xv</b>
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
<b>2. Marco Teórico</b>	<b>3</b>
<b>2.1 Enterobacterias y <i>Escherichia coli</i> en la RAM</b>	<b>3</b>
<b>2.2 Antibióticos y sus mecanismos de acción</b>	<b>4</b>
<b>2.3 <math>\beta</math>-lactámicos</b>	<b>5</b>
<b>2.4 Quinolonas</b>	<b>7</b>
<b>2.5 La OMS y la clasificación AWaRe de antibióticos</b>	<b>9</b>
<b>2.6 Guías de Práctica Clínica (GPC)</b>	<b>10</b>
<b>2.7 Redes de vigilancia de la RAM</b>	<b>11</b>
<b>2.8 Mecanismos de resistencia bacteriana</b>	<b>12</b>
<b>2.8.1. Inactivación o modificación del antibiótico por enzimas</b>	<b>12</b>
<b>2.8.2 Modificación del objetivo</b>	<b>13</b>
<b>2.8.3 Alteraciones de la permeabilidad</b>	<b>13</b>
<b>2.8.4 Expresión de bombas de expulsión.</b>	<b>13</b>
<b>2.8.5 Adquisición de elementos genéticos móviles</b> (Mobile Genetic Elements, MGE).	<b>13</b>
<b>2.9 PMQR</b>	<b>14</b>
<b>2.10 <math>\beta</math>-lactamasas y su clasificación</b>	<b>15</b>
<b>2.10.1 Clasificación molecular de Ambler</b>	<b>15</b>
<b>2.10.2 Clasificación funcional de Bush-Jacoby-Medeiros</b>	<b>16</b>
<b>2.11 BLEE: TEM, SHV Y CTX-M</b>	<b>18</b>

<b>Contenido</b>	<b>Pag.</b>
2.12 Métodos de tipificación genómica y relación clonal	19
2.12.1 Electroforesis en gel de campo pulsado (Pulse Field Gel Electrophoresis, PFGE)	19
2.12.2 Tipificación de Secuencia de Múltiples Loci (Multilocus Sequence Typing, MLST)	20
2.12.3 Tipificación Filogenética	20
2.12.4 ERIC-PCR (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus-PCR)	20
2.12.5 Secuenciación de genoma completo (Whole Genome Sequencing, WGS; Next Generation Sequencing, NGS)	21
<b>3. Antecedentes</b>	<b>22</b>
3.1 Las $\beta$ -lactamasas de Espectro Extendido (BLEE) alrededor del mundo	22
3.2 $\beta$ -lactamasas en México a través del tiempo	28
3.3 Coexistencia de BLEE y PMQR: panorama mundial	31
3.4 Las BLEE y PMQR en México.	33
3.5 Resistencia antimicrobiana en Mexicali y BLEE.	38
<b>4. Planteamiento del Problema</b>	<b>39</b>
<b>5. Justificación</b>	<b>41</b>
<b>6. Hipótesis y Objetivos</b>	<b>42</b>
6.1. Hipótesis	42
6.2. Objetivo general	42
6.3. Objetivos específicos	42
<b>7. Materiales y métodos</b>	<b>43</b>
7.1. Diseño del estudio	43
7.2. Descripción de la población	43
7.3. Criterios de selección	43
7.3.1. Criterios de inclusión	43
7.3.2. Criterios de exclusión	43

<b>Contenido</b>	<b>Pag.</b>
7.4. Transporte de muestras	44
7.5 Preparación y almacenamiento de los aislamientos	44
7.6. Confirmación fenotípica de <i>E. coli</i>	44
7.7. Extracción de ADN de cultivos puros de aislamientos bacterianos	46
7.8 Identificación molecular de <i>E. coli</i> : Detección del gen <i>ybbW</i> por PCR punto final	46
7.9 Amplificación de secuencias de genes de BLEE tipo TEM, CTX-M y SHV y PMQR ( <i>qepA</i> , <i>qnrB</i> , <i>oqxA</i> , <i>oqxB</i> y <i>aac(6')-Ib</i> ) por PCR punto final	47
7.10 Determinación del grupo filogenético mediante PCR cuádruplex de punto final	50
7.11 Determinación de diversidad clonal, mediante ERIC-PCR	52
7.12 Registro de datos	52
7.13 Análisis estadístico	53
<b>8. Resultados</b>	<b>54</b>
8.1 Perfil de Resistencia Antimicrobiana	56
8.2 Genes BLEE y PMQR	59
8.3 Filotipificación y diversidad genética	64
<b>9. Discusión</b>	<b>67</b>
<b>10. Conclusiones</b>	<b>73</b>
<b>11. Bibliografía</b>	<b>74</b>
<b>12. Anexos</b>	<b>93</b>
<b>Anexo A.</b> Inoculación e interpretación de pruebas Bioquímicas	<b>93</b>
<b>Anexo B.</b> Extracción de ADN plasmídico de <i>E. Coli</i> (Miniprep 100T) MODIFICADO	<b>97</b>

<b>Contenido</b>	<b>Pag.</b>
<b>Anexo C.</b> Artículo de investigación "Coexistence of PMQR and ESBL genes among clinical <i>Escherichia coli</i> isolates from community-acquired UTI in Mexicali, on the US-Mexico border"	<b>99</b>
<b>Anexo D.</b> Artículo de investigación "Retrospective Study 2019-2021 of Antimicrobial Resistance in <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> and <i>Proteus mirabilis</i> in Mexicali, Mexico"	<b>100</b>
<b>Anexo E.</b> Artículo de colaboración "Investigación del perfil de resistencia a betalactámicos en cepas clínicas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en Mexicali, 2019-2021"	<b>101</b>
<b>Anexo F.</b> Artículo de colaboración "Genomic Profile of a Multidrug-Resistant <i>Klebsiella pneumoniae</i> Strain Isolated from a Urine Specimen"	<b>102</b>

## Índice de Tablas

	Pag.
<b>Tabla 1.</b> Clasificación de los $\beta$ -lactámicos	6
<b>Tabla 2.</b> Generaciones de quinolonas	8
<b>Tabla 3.</b> Distribución Mundial de <i>E. coli</i> BLEE	25
<b>Tabla 4.</b> Distribución de PMQR en aislamientos de <i>E. coli</i> recuperados en Latinoamérica de diversas fuentes.	31
<b>Tabla 5.</b> Batería de pruebas bioquímicas realizadas para identificar los aislamientos de <i>E. coli</i>	44
<b>Tabla 6.</b> Secuencia de iniciadores y tamaño de productos de PCR utilizados en este estudio para la confirmación molecular de <i>E. coli</i>	46
<b>Tabla 7.</b> Secuencia de iniciadores y tamaño de los productos de PCR utilizados en este estudio para genes BLEE y PMQR.	47
<b>Tabla 8.</b> Secuencia de los iniciadores y tamaño de los productos de PCR utilizados para determinación de filogrupo por PCR cuádruplex	50
<b>Tabla 9.</b> Secuencia de los iniciadores y tamaño de los productos de PCR utilizados para determinación de filogrupo C por PCR punto final	50
<b>Tabla 10.</b> Secuencia de los iniciadores ERIC-PCR	51
<b>Tabla 11.</b> Distribución de aislamientos de <i>E. coli</i> CA-UTI por sexo y grupo etario	53
<b>Tabla 12.</b> Perfil de resistencia antimicrobiano de los aislamientos clínicos de <i>E. coli</i> recuperados de pacientes de la comunidad.	54
<b>Tabla 13.</b> Frecuencia de los resistotipos encontrados en los aislados de <i>E. coli</i> CA-UTI.	56
<b>Tabla 14.</b> Distribución y coexistencia de grupos de CTX-M entre los aislamientos	59
<b>Tabla 15.</b> Coexistencia de genes BLEE y PMQR en aislamientos de <i>E. coli</i> CA-UTI.	60
<b>Tabla 16.</b> Distribución de los genotipos encontrados en los aislamientos de <i>E. coli</i> CA-UTI.	61
<b>Tabla 17.</b> Interpretación de pruebas bioquímicas	95

## Índice de Figuras

	Pag.
<b>Figura 1.</b> Mecanismos de acción de los antibióticos	<b>4</b>
<b>Figura 2.</b> Estructura química de los antibióticos $\beta$ -lactámicos	<b>5</b>
<b>Figura 3.</b> Estructura química de las quinolonas	<b>8</b>
<b>Figura 4.</b> Mecanismos de resistencia: BLEE y PMQR	<b>17</b>
<b>Figura 5.</b> Distribución de las BLEE y PMQR en México	<b>36</b>
<b>Figura 6.</b> PCR cuádruplex de acuerdo al nuevo método de filotipificación de Clermont.	<b>50</b>
<b>Figura 7.</b> Formato de almacenamiento de datos del Cepario.	<b>52</b>
<b>Figura 8.</b> Frecuencia de las determinantes genéticas de resistencia antimicrobiana de los aislamientos de <i>E. coli</i> CA-UTI	<b>58</b>
<b>Figura 9.</b> Distribución de grupos filogenéticos los aislamientos clínicos de <i>E. coli</i> CA-UTI.	<b>63</b>
<b>Figura 10.</b> Dendrograma de los aislamientos de <i>E. coli</i> , de acuerdo a resultados de ERIC-PCR	<b>64</b>

## RESUMEN

*Escherichia coli* es un patógeno oportunista y una de las principales causas de infecciones del tracto urinario adquiridas en la comunidad (CA-UTI). *E. coli* puede albergar múltiples determinantes genéticos de resistencia, como las  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE) y los genes de resistencia a quinolonas mediada por plásmidos (PMQR), lo que complica el tratamiento empírico de las infecciones del tracto urinario (ITU) con  $\beta$ -lactámicos y quinolonas. El objetivo de este estudio fue caracterizar los genes BLEE y PMQR entre los aislamientos de *E. coli* de CA-UTI en Mexicali, México. Los aislamientos se recolectaron de enero a diciembre de 2023. La identificación se realizó por MALDI-TOF y la determinación de la producción de BLEE y la susceptibilidad a los antimicrobianos por Vitek 2. La detección de BLEE y PMQR, y la filotipificación se realizaron por PCR. La diversidad genética se determinó por reacción en cadena de la polimerasa de consenso intergénico repetitivo para enterobacterias (ERIC-PCR). Se recolectaron ochenta y nueve aislamientos de *E. coli* de CA-UTI. Todos exhibieron resistencia a ciprofloxacino, ceftriaxona y cefotaxima; mientras que fueron susceptibles a carbapenémicos y ceftazidima/avibactam. Todos los aislamientos dieron positivo para un gen BLEE o más, siendo *bla*<sub>CTX-M</sub> (98.9%) el más prevalente. Cinco aislamientos dieron negativo para genes PMQR; los restantes mostraron *aac*(6')-Ib presente en el 85.3%. Se observó coexistencia entre genes BLEE y PMQR en el 95.5%. El grupo filogenético más prevalente fue el grupo B2 (74.2%). Este estudio proporciona datos regionales valiosos, destacando un problema de salud pública debido a la alta prevalencia de genes BLEE y PMQR en *E. coli* responsable de CA-UTI, que están vinculados a la resistencia a múltiples fármacos. Se encontró diversidad genética, lo que sugiere múltiples fuentes de cepas resistentes en la comunidad. Estos hallazgos resaltan la necesidad de revisar las guías terapéuticas locales, fortalecer la vigilancia microbiológica y promover el uso racional de antimicrobianos para limitar la propagación de cepas de *E. coli* resistente, a nivel local y mundial.

## ABSTRACT

*Escherichia coli* is an opportunistic pathogen and the leading cause of community-acquired urinary tract infections (CA-UTIs). This species can harbor multiple antimicrobial resistance determinants, including Extended-Spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) and Plasmid-Mediated Quinolone Resistance (PMQR) genes, which complicate empirical treatment with  $\beta$ -lactams and quinolones. This study aimed to characterize ESBL and PMQR genes among *E. coli* isolates from CA-UTIs in Mexicali, Mexico. Isolates were collected from January to December 2023. Identification was performed using MALDI-TOF, ESBL detection and antimicrobial susceptibility testing with Vitek 2, and PCR was used for the detection of ESBL, PMQR genes and phylotyping. Genetic diversity was assessed by Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus PCR (ERIC-PCR). A total of 89 *E. coli* isolates were recovered from CA-UTIs. All showed resistance to ciprofloxacin, ceftriaxone and cefotaxime, while remaining susceptible to carbapenems and ceftazidime/avibactam. All isolates harbored at least one ESBL gene, with *bla*<sub>CTX-M</sub> being the most prevalent (98.9%). Five isolates were negative for PMQR genes, among the remaining isolates, *aac(6')/b* was detected in 85.3%. Coexistence of ESBL and PMQR was observed in 95.5% of isolates. The most prevalent phylogenetic group was B2 (74.2%). This study provides valuable regional data and highlights a significant public health concern due to the high prevalence of ESBL and PMQR genes in *E. coli* causing CA-UTIs, which are associated with multidrug resistance. The observed genetic diversity suggests multiple sources of resistant strains circulating in the community. These findings underscore the need for continued surveillance and control efforts to limit the spread of resistant *E. coli*, both locally and globally

## 1. INTRODUCCIÓN

La resistencia antimicrobiana (RAM) es un fenómeno complejo que representa una amenaza global significativa para la salud pública (Gharavi et al., 2021). Su evolución ocurre de manera acelerada (Miranda-Romero et al., 2017) y constituye un mecanismo de autodefensa mediante el cual las bacterias evaden la acción de los antimicrobianos utilizados para combatirlos (Moglad, 2020). Si bien la resistencia bacteriana antecede históricamente al uso clínico de antibióticos (Miranda-Romero et al., 2017), debido a que la resistencia puede constituir una característica intrínseca de la bacteria, también puede adquirirse durante el proceso infeccioso (Giono-Cerezo et al., 2020).

El uso inadecuado y no regulado de antibióticos ha intensificado este fenómeno (Dioli et al., 2023; Duran-Bedolla et al., 2024; Gharavi et al., 2021), ya que la presión selectiva favorece la emergencia y propagación de organismos resistentes (Miranda-Romero et al., 2017). Por ello, organismos como la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Unión Europea (EU) y los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) han catalogado la RAM como un desafío prioritario (Peirano & Pitout, 2019). Actualmente, se estima que la RAM es responsable de alrededor de 50,000 muertes anuales solo en Europa y Estados Unidos, y la OMS proyecta que podría causar hasta 10 millones de muertes al año para 2050 (O'Neill, 2014).

Las implicaciones clínicas de la RAM son diversas y de alto impacto. Entre ellas destacan la disminución de la probabilidad de éxito terapéutico (Miranda-Romero et al., 2017), el incremento en las tasas de fracaso del tratamiento, y la reducción de las alternativas antimicrobianas para infecciones graves (Barrios et al., 2017). La administración tardía o inadecuada de un antibiótico apropiado incrementa la morbilidad y mortalidad (Barrios et al., 2017; Miranda-Romero et al., 2017; Peirano & Pitout, 2019), mientras que el uso de un antimicrobiano inadecuado no solo carece de beneficio clínico, sino que puede conducir a un peor pronóstico (Saga & Yamaguchi, 2009).

Dado su carácter evolutivo, su rápida diseminación y su impacto sistémico, la RAM es considerada un problema prioritario de salud pública (Castro-Alarcón et al., 2014). Además, amenaza la eficacia de diversas intervenciones médicas que depende del uso de antibióticos profilácticos, como la quimioterapia, las cirugías extensas, entre otros procedimientos (O'Neill, 2014).

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Enterobacterias y *Escherichia coli* en la RAM

La familia *Enterobacteriaceae* comprende un amplio grupo de bacterias gramnegativas fermentadoras, de gran relevancia clínica. Se caracterizan por ser oxidasa negativas, catalasa positivas, reductoras de nitratos y, con frecuencia, productoras de gas (Saba Villarroel, 2013). Dentro de esta familia, *E. coli* destaca como patógeno anaerobio facultativo con notable importancia clínica, debido a su elevada plasticidad genómica (Macesic et al., 2025). Sus características morfológicas y bioquímicas incluyen su movilidad debido a la presencia de flagelos peritricos; posee fimbrias, es productora de indol, descaboxila a lisina, fermenta manitol y lactosa, y produce gas (Romero-Cabello et al., 2024a).

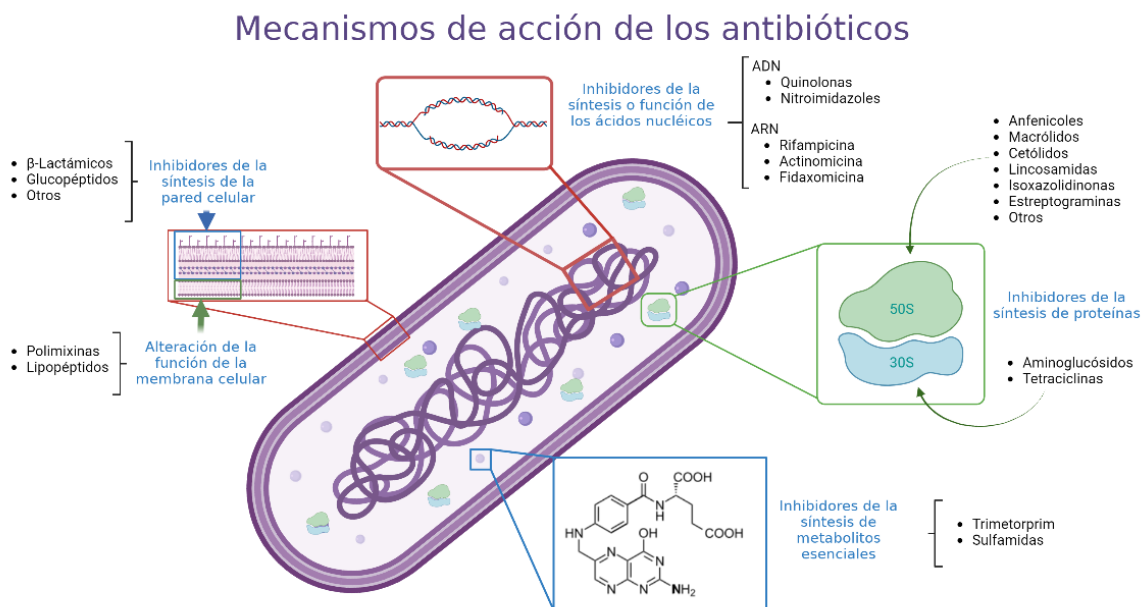
Aunque forma parte de la microbiota intestinal humana y animal (Cortés-Cortés et al., 2017), constituye uno de los agentes etiológicos más relevantes de infecciones extraintestinales, y es el principal agente causal de las ITU en todo el mundo (Duran-Bedolla et al., 2024).

Asimismo, *E. coli* representa una causa frecuente de infecciones bacterianas tanto asociadas a la atención de la salud (Infecciones Asociadas a la atención de la salud, IAAS), como de origen comunitario (Coque et al., 2008; Núñez-Samudio et al., 2021). Debido a su capacidad de adquirir, mantener y diseminar diversos mecanismos de resistencia, la OMS ha clasificado a las *Enterobacteriaceae* productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE), entre ellas *E. coli*, como un grupo crítico de patógenos resistentes (Larramendy et al., 2020). A nivel mundial, *E. coli* ocupa el tercer lugar entre los patógenos prioritarios resistentes (Denamur et al., 2021) y es la bacteria responsable del mayor número de muertes atribuibles a la RAM (Murray et al., 2022). Esta problemática es especialmente relevante en países como México, donde las tasas de multidrogorresistencia (MDR) son particularmente elevadas (Ballesteros-Monrreal et al., 2023).

## 2.2 Antibióticos y sus mecanismos de acción

Los antibióticos constituyen un tipo específico de agentes antimicrobiano (Mejía-Argueta et al., 2022), que fueron desarrollados para interferir con funciones celulares esenciales de las bacterias (Macesic et al., 2025). Desde su introducción a mediados del siglo XX, posterior al descubrimiento de la penicilina por Alexander Fleming en 1928, han sido fundamentales en el tratamiento de enfermedades infecciosas (Gharavi et al., 2021; O'Neill, 2014; Saga & Yamaguchi, 2009)

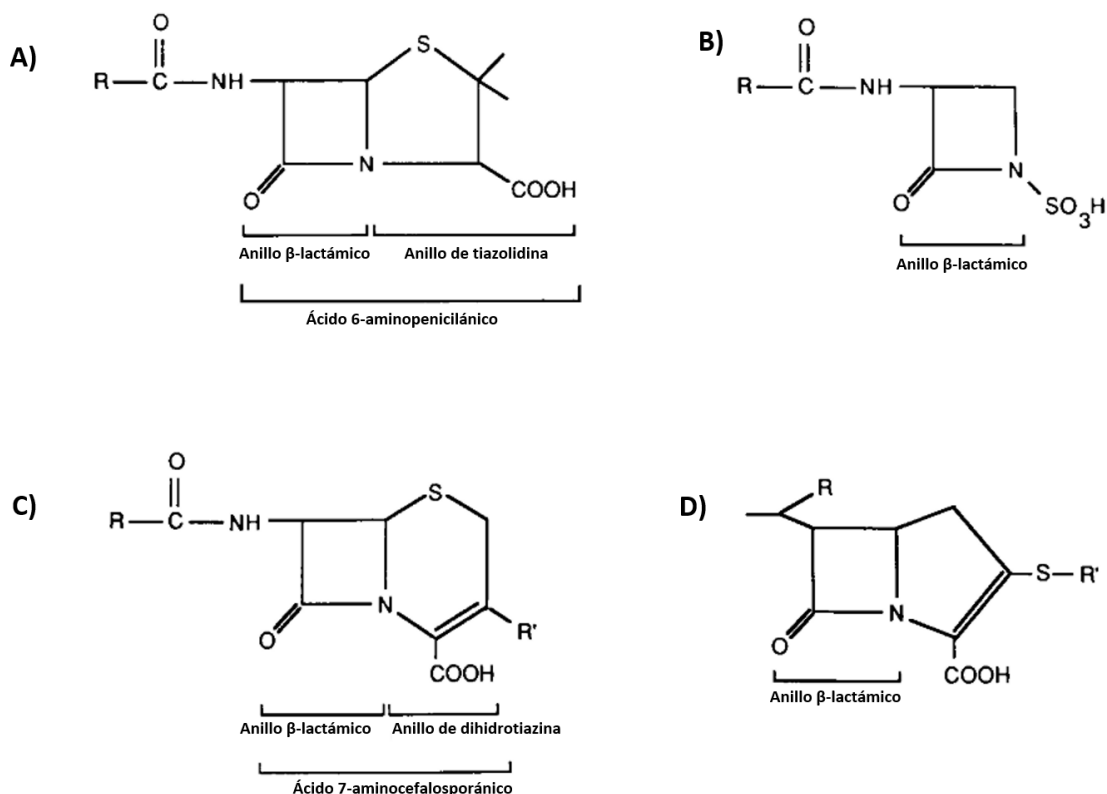
Los antibióticos actúan mediante diversos mecanismos, como la inhibición de la síntesis de la pared celular, la síntesis de proteínas, la replicación del ADN, o la síntesis de folatos (Macesic et al., 2025). En la figura 1 se presentan las diferentes clases de antibióticos y sus mecanismos de acción.



**Figura 1.** Mecanismos de acción de los antibióticos. Modificado de Fernández, 2015

## 2.3 $\beta$ -lactámicos

Son los agentes antimicrobianos más prescritos (Marín & Gudiol, 2003) Los antibióticos  $\beta$ -lactámicos son un factor clave en el tratamiento de infecciones bacterianas a nivel mundial y representan casi el 65% del consumo total de antibióticos (Gharavi et al., 2021). Esta clase incluye: Penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos, monobactámicos, cefamicinas e inhibidores de  $\beta$ -lactamasas (Tabla 1) (Gharavi et al., 2021; Silago et al., 2021). Su característica distintiva es la presencia del anillo  $\beta$ -lactámico en su estructura molecular (Lewis & Bush, 2015), como se muestra en la Figura 2.



**Figura 2.** Estructura química de los antibióticos  $\beta$ -lactámicos. A) Penicilinas, B) Monobactámicos, C) Cefalosporinas, y D) Carbapenémicos. Modificado de (Lewis & Bush, 2015).

El mecanismo de acción de estos antibióticos se centra en la inhibición de la etapa final de la síntesis de la pared celular bacteriana, un proceso vital cuya interrupción conduce a la muerte del microorganismo (Macesic et al., 2025). Esta última fase implica dos procesos esenciales: la formación de tetrapéptidos a partir de pentapéptidos y el entrecruzamiento de estos para construir la red de peptidoglucano. Este entrecruzamiento es catalizado por las Proteínas Fijadoras de Penicilinas (PBP), enzimas localizadas en la membrana plasmática, que pueden funcionar como carboxipeptidasas o transpeptidasas (Bush & Bradford, 2020).

El efecto de los  $\beta$ -lactámicos se debe a la similitud estructural del anillo  $\beta$ -lactámico con la región terminal del pentapéptido, Gracias a esta semejanza, estos antibióticos actúan como señuelos y se unen de forma covalente a las PBP. Al hacerlo, inhiben la formación de puentes peptídicos, es decir, el entre cruzamiento del peptidoglucano (Bush & Bradford, 2020). Como consecuencia, la pared celular se debilita, la bacteria se vuelve más susceptible a los cambios en la presión osmótica, y se produce una desregulación autolítica que finalmente provoca la lisis bacteriana (Saba Villarroel, 2013).

**Tabla 1.** *Clasificación de los  $\beta$ -lactámicos*

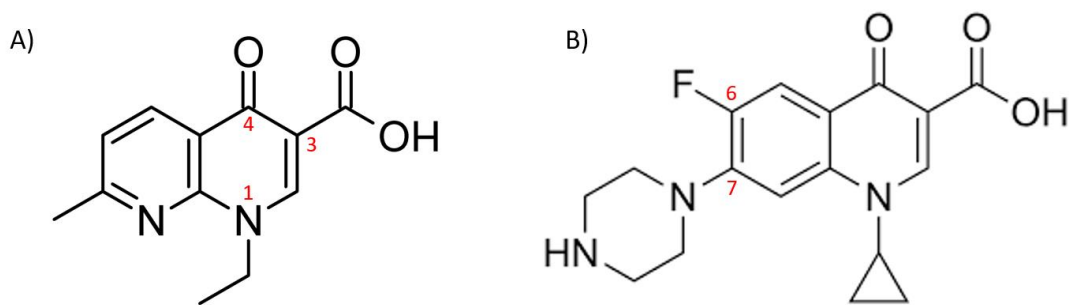
<b>Clase</b>	<b>Antibióticos representativos</b>
Penicilinas	Penicilina G
Cefalosporinas	1º generación: cefazolina 2º generación: cefuroxima 3º generación: cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima 4º generación: cefepima
Monobactámicos	Aztreonam
Carbapenémicos	Ertapenem, imipenem, meropenem, doripenem

\*Información adaptada de Romero-Cabello et al., 2024.

## 2.4 Quinolonas

Las quinolonas, incluidas las fluoroquinolonas, constituyen una clase de antimicrobianos que, junto con los  $\beta$ -lactámicos, representan una de las principales opciones terapéuticas para el tratamiento de infecciones causadas por enterobacterias (Coque et al., 2008). Su origen es sintético y su desarrollo se inició con el descubrimiento accidental del ácido nalidíxico durante la síntesis de cloroquina (un compuesto antimalárico) a finales de la década de 1960 (Silva-Sánchez et al., 2013). Aunque este primer agente presentó un rápido desarrollo de resistencia y su utilidad clínica se limitó al tratamiento de ITU, marcó el punto de partida para el posterior desarrollo de quinolonas mejoradas (Tabla 2) (Hooper & Jacoby, 2015).

La estructura química básica de estos antibióticos está formada por dos anillos. Uno de ellos presenta un nitrógeno en la posición 1, un grupo carbonilo en la posición 4 y un grupo carboxilo en la posición 3 (Saba Villarroel, 2013) (Figura 3A). Las fluoroquinolonas constituyen una subcategoría dentro de las quinolonas. Su desarrollo se basó en la incorporación de un átomo de flúor en la posición 6 y, con frecuencia, la presencia de un anillo de piperazina en la posición 7 (Figura 3B). Esta fluoración incrementó notablemente su potencia y amplió el espectro de actividad frente a bacterias gramnegativas, como es el caso de ciprofloxacina, introducida en 1987 (Hooper & Jacoby, 2015).



**Figura 3.** Estructura química de las quinolonas. A) Ácido nalidíxico; B) Ciprofloxacina. En rojo se muestran las posiciones de los sustituyentes de cada una

**Tabla 2.** Generaciones de quinolonas

Generación	Compuestos representativos
Primera (no fluoradas)	Ácido nalidíxico, Ácido pipemídico, Ácido oxolínico
Segunda (fluoradas)	Norfloxacina, Ciprofloxacina, Enoxacina, Ofloxacina
Tercera (fluoradas)	Levofloxacina, Lomefloxacina
Cuarta (fluoradas)	Gatifloxacina, Moxifloxacina

\*Información adaptada de Saba Villarroel, 2013.

Las fluoroquinolonas son antibióticos de amplio espectro (Ramírez-Castillo et al., 2018) y son muy importantes en el tratamiento de diversas infecciones, particularmente las ITU (Silva-Sánchez et al., 2013).

El mecanismo de acción de las quinolonas se basa en la inhibición de la síntesis de ADN mediante la inactivación de las topoisomerasas II y IV del ADN (Barrios-Villa et al., 2023). Sus principales blancos son la ADN girasa (codificada por genes *gyrA* y *gyrB*) y la topoisomerasa tipo IV (codificada por *parC* y *parE*) (Silva-Sánchez et al., 2013).

Las topoisomerasas catalizan la ruptura de una de las hebras de la doble cadena de ADN, permiten el paso de otra hebra a través de la ruptura y posteriormente resellan la molécula. Las quinolonas actúan bloqueando el resellado de esta ruptura. Al unirse al complejo de ADN-enzima, inducen un cambio conformacional que estabiliza un intermediario covalente y genera una barrera para el avance de la horquilla de replicación. Este proceso inhibe la replicación y el crecimiento bacteriano, y explica la actividad bactericida característica de estas moléculas (Hooper & Jacoby, 2015)

## **2.5 La OMS y la clasificación AWaRe de antibióticos**

Con el fin de promover el uso racional de los antimicrobianos y preservar la eficacia de aquellos considerados como de último recurso, la OMS desarrolló la clasificación AWaRe (Access, Watch, Reserve), la cual se utiliza como una herramienta guía para la prescripción adecuada (World Health Organization, 2025)

Los antibióticos del grupo "Access" (Acceso) incluyen agentes recomendados como primera o segunda elección para el tratamiento empírico de infecciones comunes. Se caracterizan por su un espectro de actividad estrecho, bajo costo, perfiles de seguridad favorables y menor potencial para generar resistencia. Entre estos fármacos se encuentran amoxicilina, penicilina, y cefalosporinas de primera generación (World Health Organization, 2025).

Por su parte, los antibióticos del grupo "Watch" (Vigilancia) poseen un espectro más amplio y un mayor riesgo de selección de resistencia. Se reservan para situaciones específicas, como infecciones graves o cuando existe sospecha de resistencia a los fármacos del grupo "Access", entre los agentes más representativos se encuentran las cefalosporinas de tercera y cuarta generación, fluoroquinolonas y carbapenémicos (World Health Organization, 2025).

Finalmente, el grupo "Reserve" (Reserva) comprende antibióticos de último recurso empleados exclusivamente en infecciones producidas por organismos MDR. Ejemplos relevantes son colistina, tigeciclina y algunas combinaciones novedosas de  $\beta$ -lactámicos con inhibidores de  $\beta$ -lactamasas) (World Health Organization, 2025).

## **2.6 Guías de práctica clínica (GPC)**

Las guías de práctica clínica (GPC) son documentos fundamentales en el ámbito sanitario, elaborados por organizaciones médicas y de salud reconocidas internacionalmente. Su propósito es establecer estándares para la atención sanitaria y orientar la toma de decisiones clínicas con base en la mejor evidencia científica disponible (CENETEC, 2024; Tunkel et al., 2004).

Diversas organizaciones de prestigio desarrollan y publican GPC que sirven como referencia global, y cuyas metodologías y recomendaciones suelen emplearse en la formulación de guías nacionales. Entre las GPC internacionales más influyentes, se encuentran las elaboradas por la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (Infectious Diseases Society of America, IDSA). En el contexto nacional, las GPC del Sistema Nacional de Salud se elaboran con la participación de diversas instituciones públicas (CENETEC, 2024).

En el caso del tratamiento empírico de ITU, tanto las guías internacionales como las nacionales recomiendan el uso de  $\beta$ -lactámicos (CENETEC, 2021a; Trautner et al., 2025). Asimismo, sugieren el uso de quinolonas en situaciones donde se sospeche la presencia de microorganismos productores de BLEE (Tamma et al., 2024).

## **2.7 Redes de vigilancia de la RAM**

Ante el incremento del desafío que representa la RAM, se han implementado diversas iniciativas de vigilancia global destinadas a monitorear y contener su expansión, así como a respaldar la formulación de políticas de administración de antimicrobianos basadas en evidencia. El enfoque de “una sola salud” promovido por OMS fomenta la colaboración interdisciplinaria y la coordinación en los ámbitos local, nacional e internacional. En el marco de su Plan de Acción Mundial, la OMS introdujo en 2015 el Sistema Mundial de Vigilancia de la Resistencia y el uso de Antimicrobianos (Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System, GLASS). En concordancia con este esfuerzo, México presentó en 2018 la “Estrategia Nacional contra la Resistencia Antimicrobiana”(Garza-González et al., 2020).

En la actualidad, México cuenta con dos redes nacionales orientadas a la vigilancia de la RAM: la Red Temática de Investigación y Vigilancia de la Farmacorresistencia (INVIFAR) (Garza-González et al., 2019), y el Plan Universitario de Control de la Resistencia Antimicrobiana (PUCRA) en 2017 (Miranda-Novales et al., 2022). No obstante, pese a estos avances, el país aún no dispone de una red oficial de vigilancia de la RAM y tampoco participa formalmente en el programa GLASS de la OMS (Torumkuney et al., 2022).

## **2.8 Mecanismos de resistencia bacteriana**

La resistencia bacteriana es un mecanismo de autodefensa que ha existido incluso antes del uso de antibióticos (Miranda-Romero et al., 2017). Sin embargo, debido al uso continuo de estos fármacos, la aparición de cepas resistentes es inevitable, ya que la presión antibiótica favorece la selección de bacterias capaces de sobrevivir, como parte de un proceso evolutivo adaptativo (Casañ-Lopez, 2021). En este sentido, la resistencia a los antibióticos representa la respuesta bacteriana por asegurar su supervivencia frente a un agente quimioterapéutico (Kotra & Mobashery, 1998)

Las bacterias desarrollan resistencia a los antibióticos a través de diversos mecanismos, que pueden ser intrínsecos o adquiridos. Los mecanismos intrínsecos derivan de características estructurales o funcionales propias de la especie bacteriana, mientras que los adquiridos incluyen mutaciones en genes cromosómicos o la incorporación de material genético mediante transferencia horizontal (Barrios-Villa et al., 2023; Blair et al., 2014).

### *2.8.1 Inactivación o modificación del antibiótico por enzimas.*

Uno de los principales mecanismos de resistencia, especialmente en bacterias gramnegativas, es la producción de enzimas catalíticas, como las  $\beta$ -lactamasas que hidrolizan el anillo  $\beta$ -lactámico e impiden la unión del antibiótico a las PBP (Bush & Bradford, 2020; Kotra & Mobashery, 1998; Marín & Gudiol, 2003; Peirano & Pitout, 2019). Asimismo, las enzimas modificadoras de aminoglucósidos (Aminoglycoside Modifying Enzyme, AME) catalizan modificaciones en grupos amino o hidroxilo específicos, reduciendo la capacidad del antibiótico para unirse a su sitio blanco en el ribosoma (Barrios-Villa et al., 2023; Macesic et al., 2025)

### *2.8.2 Modificación del objetivo*

Este mecanismo implica la alteración estructural o protección del blanco molecular al que se dirige el antibiótico (Barrios-Villa et al., 2023; Blair et al., 2014). En el caso de los  $\beta$ -lactámicos, las modificaciones en las PBP disminuyen la afinidad del fármaco por dichas enzimas, afectando principalmente a cocos grampositivos (Kotra

& Mobashery, 1998; Marín & Gudiol, 2003). Otro ejemplo son las 16S ARNr metiltransferasas, que metilan al sitio de unión ribosomal, impidiendo que los aminoglucósidos se unan al ribosoma (Macesic et al., 2025). También se incluye la resistencia mediada por la modificación del lípido A del lipopolisacárido en bacilos gramnegativos, la cual altera la carga de su superficie y reduce la afinidad de las polimixinas.

### *2.8.3 Alteraciones de la permeabilidad*

Las bacterias pueden disminuir la entrada del antibiótico, evitando que alcance concentraciones intracelulares efectivas (Blair et al., 2014). En bacilos gramnegativos, esto ocurre mediante la disminución o pérdida de porinas, lo que limita la permeación de moléculas hidrofílicas como  $\beta$ -lactámicos y quinolonas (Casañ-Lopez, 2021; Marín & Gudiol, 2003); o mediante alteraciones en porinas como OmpF y OmpC en *E. coli*, que reducen la entrada del fármaco a la bacteria, o por el aumento de la expresión de bombas de eflujo (Blair et al., 2014; Delcour, 2009). En ambos casos la concentración citoplasmática del fármaco se disminuye (Hooper & Jacoby, 2015).

### *2.8.4 Expresión de bombas de expulsión.*

Las bombas de eflujo exportan activamente los antibióticos fuera de la célula, disminuyendo su concentración citoplasmática y confiriendo resistencia a múltiples fármacos (Barrios-Villa et al., 2023; Blair et al., 2014; Hawkey, 2008; Wilke et al., 2005). Estos sistemas son frecuentes en bacilos gramnegativos y actúan como canales especializados que expulsan antimicrobianos al exterior de la célula (Marín & Gudiol, 2003).

### *2.8.5 Adquisición de elementos genéticos móviles (Mobile Genetic Elements, MGE).*

La resistencia adquirida se propaga eficazmente mediante MGE, los cuales facilitan la transferencia horizontal. Entre ellos se incluyen plásmidos, que portan genes de resistencia y pueden transferirse entre bacterias de diferentes especies o géneros (Carattoli, 2013); en transposones que son secuencias capaces de movilizarse dentro del genoma, lo que puede causar recombinación, deleciones o inserciones,

y aumenta la diversidad genética (Casañ-Lopez, 2021); e integrones que son elementos genéticos que tienen la capacidad de capturar e integrar genes de resistencia organizados en forma de “cassettes” (Casañ-Lopez, 2021).

## 2.9 PMQR

Los PMQR (del inglés, Plasmid Mediated Quinolone Resistance) constituyen un conjunto de determinantes genéticos de resistencia adquirida localizados en plásmidos (Saba Villarroel, 2013), lo que los hace transferibles entre bacterias (Silva-Sanchez et al., 2011). Los plásmidos son moléculas de ADN circular extracromosómico con capacidad de replicación autónoma, y con frecuencia portan genes de resistencia adicionales, como aquellos que codifican para BLEE (Carattoli, 2013; Chong et al., 2018).

Por sí mismos, los PMQR confieren únicamente resistencia de bajo nivel a las fluoroquinolonas, sin alcanzar los puntos de corte clínicos de no susceptibilidad (Hooper & Jacoby, 2015). No obstante, su importancia radica en que facilitan la selección de mecanismos cromosómicos adicionales de resistencia (Carattoli, 2013; Hooper & Jacoby, 2015). Los mecanismos mediante los cuales interfieren con la acción de las quinolonas incluyen protección del blanco farmacológico, la sobreexpresión de bombas de eflujo, y la modificación enzimática.

Las Proteínas Qnr, cuyas alelos incluyen QnrA, QnrB, QnrC, QnrD, QnrS, así como varios alelos (Barrios-Villa et al., 2023), pertenecen a la familia de proteínas compuestas por repeticiones de pentapéptidos. Su función principal es proteger a la ADN girasa y topoisomerasa IV de la inhibición mediada por quinolonas. (Carattoli, 2013; Hooper & Jacoby, 2015; Jia et al., 2021). La evolución de los genes *qnr* se caracteriza por una elevada frecuencia de recombinación entre alelos (Rodríguez-Beltrán et al., 2021).

La enzima AAC(6')-Ib-cr es una variante de una enzima modificadora de aminoglucósidos (una aminoglucósido acetiltransferasa) con actividad bifuncional. Además de conservar su capacidad original de modificar aminoglucósidos como amikacina, kanamicina y tobramicina, esta variante puede acetilar fluoroquinolonas

que contienen un nitrógeno amino en el anillo piperazilínico, como norfloxacin y ciprofloxacina, confiriendo resistencia a estos compuestos. La sigla “cr” hace referencia a “ciprofloxacina resistente” (Hooper & Jacoby, 2015).

Aunque hay bombas de eflujo que confieren resistencia antimicrobiana, algunas pueden ser intrínsecas (Hooper & Jacoby, 2015). Sin embargo, las mediadas por plásmido asociadas a resistencia a quinolonas pertenecen principalmente a dos tipos de genes: *qepA* y el operón *oqxAB*. Las bombas de *qepA* pertenecen a la familia MFS (Major facilitator Superfamily) que reduce la susceptibilidad a fluoroquinolonas hidrofílicas, especialmente a ciprofloxacina y norfloxacin. Las bombas tipo *OqxAB* pertenecen a la familia RND (Resistance-Nodulation-Division), con una amplia especificidad de sustrato, que incluyen diversas quinolonas, entre ellas ciprofloxacina, norfloxacin y ácido nalidíxico (Hooper & Jacoby, 2015; Saba Villarroel, 2013).

## **2.10 β-lactamasas y su clasificación**

Las β-lactamasas son enzimas que inactivan a los antibióticos β-lactámicos mediante la unión covalente a su anillo β-lactámico y la posterior hidrólisis de esta estructura. La clasificación de estas enzimas es fundamental para comprender los mecanismos de resistencia a los β-lactámicos (Brolund & Sandegren, 2015).

Existen dos sistemas de clasificación principales, que emplean criterios distintos: la clasificación molecular de Ambler (Clases A, B, C y D) se basa en la estructura protéica (Ambler, 1980; Hall & Barlow, 2005), y la clasificación funcional de Bush-Jacoby-Medeiros, basada en el perfil de actividad enzimática y la susceptibilidad a inhibidores (Brolund & Sandegren, 2015; Bush & Bradford, 2020; Bush & Jacoby, 2010; Noster et al., 2021).

### *2.10.1 Clasificación molecular de Ambler*

Las clases A, C y D corresponden a serino-β-lactamasas, que emplean un residuo de serina en su sitio activo para formar un intermediario acil-serina (Wilke et al., 2005). La clase B, en cambio, incluye metalo-β-lactamasas que requieren iones de zinc para su actividad hidrolítica (Bush & Bradford, 2020; Hawkey, 2008; Martínez-

Martínez & González-López, 2014; Wilke et al., 2005) y que pueden hidrolizar a la mayoría de los  $\beta$ -lactámicos, excepto los monobactámicos (Bush & Bradford, 2020; Martínez-Martínez & González-López, 2014).

La clase A es el grupo más numeroso (Hawkey, 2008), e incluye penicilinasas, BLEE tipo TEM, SHV, CTX-M, así como carbapenemasas tipo KPC (Bush & Jacoby, 2010). La clase B, comprende metalo- $\beta$ -lactamasas, principalmente carbapenemasas como NDM, VIM e IMP (Bush & Bradford, 2020). La clase C se constituye principalmente de cefalosporinasas cromosómicas tipo AmpC (Jacoby, 2009), además de variantes plasmídicas como CMY, MIR, DHA y FOX, entre otras (Hawkey, 2008; Roschanski et al., 2014). Por último, las  $\beta$ -lactamasas de la clase D se caracterizan por su actividad oxacilinasas, incluyen enzimas de amplio espectro y carbapenemasas como las tipo OXA y sus múltiples variantes, siendo una de las clases más diversas (Bush, 2018; Bush & Bradford, 2020; Hawkey, 2008)

### *2.10.2 Clasificación funcional de Bush-Jacoby-Medeiros*

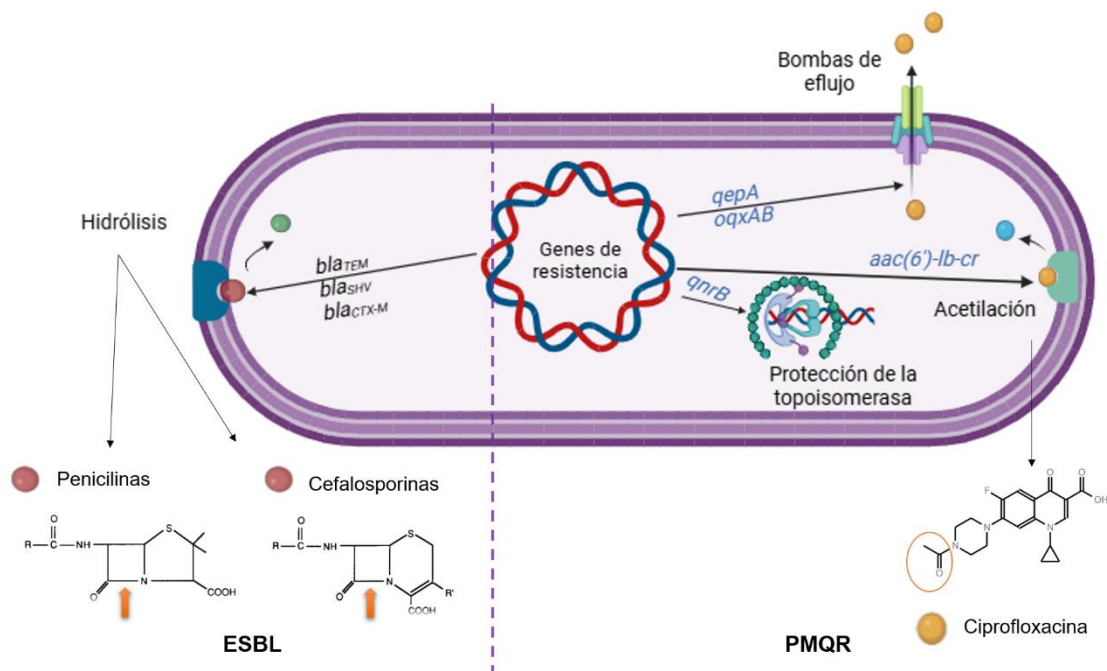
Esta clasificación agrupa las  $\beta$ -lactamasas según sus perfiles de sustrato e inhibición (Peirano & Pitout, 2019). La versión actualizada en 2010 organiza estas enzimas en tres grupos principales (1, 2 y 3), con subdivisiones que, en general, correlacionan bien con la clasificación molecular de Ambler (Bush, 2018; Bush & Bradford, 2020)

Grupo 1: Cefalosporinasas (correspondientes a la clase C de Ambler). Confieren resistencia a las cefalosporinas, monobactámicos y cefamicinas. Generalmente no son inhibidas por los inhibidores clásicos (ácido clavulánico, sulbactam, tazobactam), aunque si pueden inhibirse eficazmente por nuevos inhibidores como avibactam y relebactam (Bush & Bradford, 2020; Jacoby, 2009).

Grupo 2: Penicilinasas, Cefalosporinasas y BLEE (principalmente clases A y D de Ambler). Es el grupo más diverso. La mayoría son inhibidas por inhibidores de  $\beta$ -lactamasas (Bush & Jacoby, 2010). El grupo 2a y 2b corresponde a penicilinasas de espectro estrecho que hidrolizan penicilinas y algunas cefalosporinas de primera generación (Bush & Bradford, 2020). El subgrupo 2be son las BLEE, capaces de

hidrolizar penicilinas, cefalosporinas de 3<sup>o</sup> y 4<sup>o</sup> generación y monobactámicos, no hidrolizan cefamicinas y son inhibidas por ácido clavulánico y tazobactam (Bush & Jacoby, 2010). El subgrupo 2br corresponde a  $\beta$ -lactamasas de amplio espectro que han adquirido resistencia a los inhibidores tradicionales (Bush & Jacoby, 2010). El subgrupo 2de son enzimas con actividad frente a oximinocefalosporinas. El subgrupo 2df tiene enzimas con actividad carbapenemasa. Y finalmente, el subgrupo 2f, se conforma de carbapenemasas de serina, que también hidrolizan oximinocefalosporinas y cefamicinas (Bush & Jacoby, 2010).

Grupo 3: Metalo- $\beta$ -lactamasas (correspondientes a la clase B de Ambler). Requieren zinc para su actividad. Hidrolizan penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos, pero presentan escasa o nula actividad frente a monobactámicos. No son inhibidas por los inhibidores tradicionales, sino por quelantes como EDTA (Bush & Jacoby, 2010).



**Figura 4. Mecanismos de resistencia: BLEE y PMQR.**

## 2.11 BLEE: TEM, SHV Y CTX-M

Las BLEE son un grupo heterogéneo de enzimas que confieren resistencia a gran parte de los  $\beta$ -lactámicos, entre ellos penicilinas, cefalosporinas de tercera y cuarta generación, así como a monobáctamicos (Macesic et al., 2025). Por lo tanto, la producción de BLEE limita las opciones terapéuticas. Entre las BLEE más comunes y distribuidas ampliamente se encuentran el tipo Temoniera (TEM), Sulfhidril Variable (SHV) y Cefotaximasa Tipo M (CTX-M).

TEM (codificado por *bla<sub>TEM</sub>*) es una de las familias de  $\beta$ -lactamasas más antiguas e importantes, y constituye un hito en la historia de la resistencia a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos. Evolucionaron a partir de las variantes de espectro reducido TEM-1 y TEM-2 (Hassuna et al., 2020). Pertenecen a la clase A de Ambler (Noster et al., 2021) y al grupo funcional 2 de la clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros. Hasta la fecha se han descrito más de 160 variantes moleculares, reflejo de su continua evolución por mutación (Hawkey, 2008). Se distribuyen ampliamente en bacterias gramnegativas, especialmente en la familia *Enterobacteriaceae*, y suelen estar albergados en plásmidos y transposones (Casañ-Lopez, 2021; Saba Villarroel, 2013). Frecuentemente coexisten con otros genes de resistencia en clones de alto riesgo (Mathers et al., 2015).

La familia SHV pertenece a la clase A de Ambler, y al grupo funcional 2 de la clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros (Noster et al., 2021). Se encuentran típicamente en plásmidos conjugativos y ampliamente diseminados en bacterias gramnegativas en conjunto con otros determinantes genéticos de resistencia para otras clases de antibióticos (Silva-Sanchez, Garza-Ramos, et al., 2011). El continuo proceso evolutivo ha dado lugar a numerosas variantes; se han descrito alrededor de 193 alelos de *bla<sub>SHV</sub>*, aunque no todas confieren el fenotipo BLEE (Bush & Bradford, 2020). SHV fue una de las primeras enzimas en conferir resistencia plasmídica a cefalosporinas de tercera generación, marcando el inicio del problema de las BLEE (Paterson & Bonomo, 2005). La variante ancestral SHV-1 se codifica naturalmente en el cromosoma de *Klebsiella pneumoniae* (Bush & Bradford, 2020).

La familia CTX-M (Cefotaximasas tipo M) constituye actualmente el grupo de BLEE con más prevalencia y epidemiológicamente más relevante a nivel mundial (Bush & Bradford, 2020). También pertenece a la clase A de Ambler. Se diferencian fenotípicamente de TEM y SHV por su mayor afinidad por cefotaxima sobre ceftazidima (Bush & Bradford, 2020), y su origen evolutivo es completamente distinto (Chong et al., 2018). Los CTX-M se clasifican en cinco grupos principales según sus secuencias de aminoácidos: CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 y CTX-M-25/26 (Hassuna et al., 2020). Se han identificado más de 165 variantes a nivel mundial (Pavez et al., 2019). Están frecuentemente asociadas con otros genes de resistencia (Casañ-Lopez, 2021), y con clones pandémicos, específicamente *E. coli* ST131 (Peirano & Pitout, 2019).

## **2.12 Métodos de tipificación genómica y relación clonal**

Los métodos de tipificación genómica constituyen herramientas fundamentales en microbiología clínica y epidemiología, ya que permiten comparar el material genético de distintos aislamientos bacterianos para determinar su relación evolutiva, su estructura poblacional y su diseminación.

### *2.12.1 Electroforesis en gel de campo pulsado (Pulse Field Gel Electrophoresis, PFGE)*

La PFGE es la técnica de referencia establecida para analizar la relación clonal entre microorganismos (Casañ-Lopez, 2021). En esta metodología, el ADN genómico se digiere con enzimas de restricción y los fragmentos generados se separan mediante PFGE, obteniendo un patrón característico o “huella dactilar” (fingerprinting). Los patrones de bandas se comparan mediante el coeficiente de similitud de Dice, y los dendrogramas se construyen con métodos como UPGMA (Método de Agrupamiento de Pares no Ponderados con Media Aritmética, Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) el cual evalúa la distancia genética entre aislamientos (Kumar et al., 2018; Sepp et al., 2019). Se utilizan herramientas bioinformáticas para visualizar estos resultados (Cortés-Cortés et al., 2017; Gallegos-Miranda et al., 2021; Garza-González et al., 2011; Miranda-Romero et al., 2017; Silva-Sánchez et al., 2013; Silva-Sanchez, Garza-Ramos, et al., 2011). PFGE

se utiliza para determinar si los aislados corresponden a la propagación de uno o varios clones dentro de una institución o comunidad (Lewis et al., 2007; Mathers et al., 2015), y es ideal para estudios epidemiológicos de brotes, debido a su capacidad para detectar cambios genéticos rápidos (Enright & Spratt, 1999). Es probablemente el método más empleado para organismos productores de BLEE (Paterson & Bonomo, 2005), aunque su realización sea laboriosa y requiera numerosos pasos (Casañ-Lopez, 2021).

### *2.12.2 Tipificación de Secuencia de Múltiples Loci (Multilocus Sequence Typing, MLST)*

El MLST es la técnica de referencia para identificar y describir clones circulantes (Casañ-Lopez, 2021) y se utiliza ampliamente en la epidemiología global y de largo plazo. Permite rastrear la diseminación de aislamientos clínicos relevantes mediante bases de datos accesibles en línea (Enright & Spratt, 1999). Este método es altamente reproducible (Mathers et al., 2015) y determina el secuenciotipo (Sequence type, ST) y el complejo clonal de los aislamientos (Cortés-Cortés et al., 2017), lo que facilita la identificación de clones pandémicos (Neffe et al., 2022; Quan et al., 2017; Sepp et al., 2019). Implica amplificar y secuenciar fragmentos de siete u ocho genes de mantenimiento (housekeeping genes) (Núñez-Samudio et al., 2021). A cada variante de secuencia se le asigna un número de alelo, y la combinación de números alélicos define de forma inequívoca el ST (Enright & Spratt, 1999). Su poder discriminatorio es alto y mantiene estabilidad temporal, ya que los genes de mantenimiento evolucionan relativamente lento (Enright & Spratt, 1999). Para la asignación de perfiles alélicos se utilizan bases de datos, como los esquemas Achtman o Pasteur (Sepp et al., 2019).

### *2.12.3 Tipificación Filogenética*

Este método clasifica aislamientos de *E. coli* en sus principales linajes filogenéticos (A, B1, B2, C, D, E, F) (González-Villalobos et al., 2022) mediante PCR múltiple (Miranda-Romero et al., 2017). Utiliza una combinación de marcadores genéticos (*arpA*, *chuA*, *yjaA* y el fragmento cromosómico TspE4.C2) siguiendo el protocolo

descrito por Clermont et al., (2013). Más del 95% de los aislamientos pueden asignarse correctamente con este método (Clermont et al., 2013).

#### *2.12.4 ERIC-PCR (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus-PCR)*

ERIC.PCR es un método de tipificación molecular empleado para evaluar la clonalidad entre aislamientos de enterobacterias. Utiliza cebadores dirigidos a secuencias repetitivas intergénicas de consenso de enterobacterias (ERIC), ampliamente conservadas (Saba Villarroel, 2013). La PCR amplifica las regiones entre repeticiones, generando patrones de bandas específicos por cepa y especie (Movahedi et al., 2021). Los patrones se comparan utilizando el coeficiente de similitud de Dice y se agrupan mediante el método UPGMA (Hagel et al., 2019; Kubone et al., 2020; Pavez et al., 2019). Este método ha demostrado tener un poder de discriminación adecuado para tipificación de *E. coli* (Hagel et al., 2019).

#### *2.12.5 Secuenciación de genoma completo (Whole Genome Sequencing, WGS; Next Generation Sequencing, NGS)*

La secuenciación de genoma completo proporciona la resolución más alta y la información más completa acerca de una cepa bacteriana (Noster et al., 2021). Permite describir sus características moleculares, relaciones filogenéticas y la estructura genómica de la población (Neffe et al., 2022). El avance de estas tecnologías ha generado grandes volúmenes de datos genómicos (Philippon et al., 2019). WGS facilita la localización precisa de genes de resistencia, virulencia y otros determinantes, ya que permite vincular múltiples características dentro del mismo fragmento de ADN (Carattoli et al., 2014).

### 3. ANTECEDENTES

Las BLEE han sido reportadas en diversas ocasiones, desde su primera descripción en 1983 (Neffe et al., 2022),

#### 3.1 Las $\beta$ -lactamasas de Espectro Extendido (BLEE) alrededor del mundo

En 2007, Lewis y colaboradores reportaron la aparición de las BLEE tipo CTX-M como las enzimas predominantes en el Sistema de Salud Universitario en San Antonio, Texas, Estados Unidos. *E. coli* fue el productor de BLEE más frecuente en 2004 y 2006. En total, identificaron 34 aislados de *E. coli* productores de CTX-M de un conjunto de 94 aislados BLEE estudiados. Observaron un incremento drástico en la prevalencia de enzimas CTX-M, que pasó del 60% en 2003, al 89% en 2005. La variante más común fue CTX-M-15, y la mayoría de los aislados provinieron de ITU (23 de 34). (Lewis et al., 2007)

Denisuik y colaboradores (2019) reportaron resultados del sistema de vigilancia CANWARD, con datos obtenidos entre 2007 y 2016 de hospitales canadienses. De los 8387 aislamientos clínicos de *E. coli*, el 6.4% fue productor de BLEE. La proporción anual de *E. coli* productora de BLEE aumentó significativamente del 3.4% en 2007 al 11.1% en 2016 ( $P < 0.0001$ ). Las BLEE tipo CTX-M fueron la familia dominante (92.9%), siendo CTX-M-15 la variante predominante (64.2% de los aislados de *E. coli* BLEE). Más del 95% de los *E. coli* productores de BLEE fueron sensibles a amikacina, ertapenem y meropenem. (Denisuik et al., 2019)

Sepp y colaboradores (2019) recolectaron 10780 aislados clínicos de *E. coli* cepas durante cinco meses de 2012, provenientes de 21 hospitales en Estonia, Letonia, Lituania, Noruega y San Petersburgo (Rusia). El 3.9% de los aislamientos fueron productores de algún tipo de  $\beta$ -lactamasa. CTX-M-15 fue la variante predominante (68.7% de los genes *bla*<sub>CTX-M</sub>), seguido por CTX-M-14. El ST dominante fue ST131 (40%), presente en todos los países estudiados. El gen *bla*<sub>CTX-M-15</sub> se encontró con mayor frecuencia en Letonia (82.5%). Además, el 80% de los genes CTX-M fueron mediados por plásmidos. (Sepp et al., 2019).

Pavez y colaboradores recolectaron 137 aislados productores de BLEE, de los cuales 18 correspondieron a *E. coli*, recolectados de unidades de cuidados intensivos del Hospital Hernán Henríquez Aravena, en Temuco, Chile. Los aislamientos de *E. coli* BLEE presentaron perfiles MDR. Los genes prevalentes fueron del grupo CTX-M-1 (83%) y tipo TEM (67%). Los aislados mostraron alta susceptibilidad a meropenem (100%), imipenem (94%) y ertapenem (94%). Además, se observó una elevada coexistencia de múltiples BLEE. El estudio destacó el cambio en la variante prevalente de CTX-M, que antes correspondía a CTX-M-2 (Pavez et al., 2019).

Moglad y colaboradores recolectaron 69 aislamientos de *E. coli* entre febrero y julio de 2018 en Hospitales docentes en Jartum, Sudán. La prevalencia de *E. coli* productora de BLEE fue del 34.8%. Los aislados mostraron resistencia a ceftazidima (39.1%) y cefotaxima/cefuroxima (37.7%). Todos los aislados fueron sensibles a nitrofurantoína y tigeciclina (0% de resistencia). Los aislamientos de *E. coli* MDR alcanzaron el 49.3%. (Moglad, 2020).

Gharavi y colaboradores (2021) recolectaron 1016 cepas de *E. coli* entre 2018 y 2019 en Alborz Irán. El 72.16% de los aislamientos provenía de infecciones urinarias. Del total, el 35.7% fueron productores de BLEE. *E. coli* mostró mayor sensibilidad a imipenem (99.2%), amikacina (97.9%), meropenem (97.2%) y nitrofurantoína (92.8%). La presencia de BLEE tuvo un impacto significativo en la resistencia a otros antibióticos (Gharavi et al., 2021).

En 2021, Bezabih y colaboradores publicaron un metaanálisis global que incluyó estudios desde enero 2000 a febrero de 2020 en las seis regiones de la OMS. El objetivo fue analizar la prevalencia de *E. coli* productora de BLEE en tracto digestivo en personas sanas de la comunidad. Se incluyeron 62 artículos, que incluyeron 29872 individuos. La prevalencia global acumulada entre los años 2003 y 2018 fue del 16.5%. Se observó una tendencia ascendente marcada: del 2.6% (2003 a 2005) al 21.1% (2015, 2018), lo que representó un aumento promedio anual de 1.2%, y un aumento de ocho veces durante 2 décadas. El estudio resaltó la creciente diseminación de *E. coli* BLEE fuera de entornos hospitalarios (Bezabih et al., 2021).

Para comparar la prevalencia entre entornos comunitarios y hospitalarios, Bezabih y colaboradores realizaron otro metaanálisis global con artículos publicados de enero 2000 a abril de 2021. Se incluyeron 133 estudios, con un total de 73318 participantes: 30633 individuos sanos y 42685 pacientes hospitalizados. La prevalencia global acumulada (2000–2021) fue del 21.1% en entornos de atención médica y del 17.6% en la comunidad. La tasa de portación comunitaria aumentó diez veces (del 2.6% en 2001–2005 al 26.4% en 2016–2020), mientras que en instituciones de salud aumentó 3 veces (del 7% al 25.7%). El aumento anual fue mayor en la comunidad (1.5%) que en el ámbito hospitalario (1.3%). Concluyeron que la prevalencia de *E. coli* productora de BLEE en tracto digestivo de las personas está aumentando a nivel mundial en ambos entornos, pero con mayor rapidez en la comunidad. (Bezabih et al., 2022).

La distribución mundial de *E. coli* productora de BLEE, se encuentra en la Tabla 3.

**Tabla 3: Distribución mundial de *E. coli* BLEE**

<b>Periodo de Estudio (Año de Publicación)</b>	<b>País/Región</b>	<b>Entorno</b>	<b>% BLEE en <i>E. coli</i></b>	<b>Referencia</b>
<b>2000–2006 (2007)</b>	EE. UU. (Texas)	Intrahospitalario y Ambulatorio	El estudio se enfocó en <b>34 aislados de <i>E. coli</i></b> que ya eran productores de CTX-M.	(Lewis et al., 2007)
<b>2001–2005 (2022)</b>	Global (Meta-análisis)	Comunidad (Portación intestinal)	<b>2.6%</b> (Prevalencia global agrupada).	(Bezabih et al., 2022)
<b>2001–2005 (2022)</b>	Global (Meta-análisis)	Atención Médica (Portación intestinal)	<b>7.0%</b> (Prevalencia global agrupada).	(Bezabih et al., 2022)
<b>2006 (2008)</b>	Europa (31 países)	Intrahospitalario	Rango: <b>&lt;1% a 41%</b>	(Coque et al., 2008)
<b>2006–2010 (2022)</b>	Global (Meta-análisis)	Comunidad (Portación intestinal)	<b>12.4%</b> (Prevalencia global agrupada).	(Bezabih et al., 2022)
<b>2006–2010 (2022)</b>	Global (Meta-análisis)	Atención Médica (Portación intestinal)	<b>17.4%</b> (Prevalencia global agrupada).	(Bezabih et al., 2022)
<b>2007–2016 (2019)</b>	Canadá (Hospitales)	Intrahospitalario	<b>6.4%</b> (Media general)	(Denisuik et al., 2019)
<b>2010–2014 (2016)</b>	Canadá (SMART)	Mixto (ITU)	<b>12.6%</b> (Prevalencia fenotípica en 2013-2014).	(Lob et al., 2016)
<b>2011–2015 (2022)</b>	Global (Meta-análisis)	Comunidad (Portación intestinal)	<b>16.8%</b> (Prevalencia global agrupada).	(Bezabih et al., 2022)
<b>2011–2015 (2022)</b>	Global (Meta-análisis)	Atención Médica (Portación intestinal)	<b>25.2%</b> (Prevalencia global agrupada).	(Bezabih et al., 2022)
<b>2012 (2019)</b>	Norte y Este de Europa	Mixto (Clínico)	<b>4.7%</b> (Prevalencia fenotípica)	(Sepp et al., 2019)
<b>2014–2015 (2019)</b>	Chile (Sur)	Intrahospitalario (UCI)	Todos los aislados estudiados fueron BLEE.	(Pavez et al., 2019)
<b>2013-2014 (2017)</b>	China	Comunitario	<b>56.7%</b>	(Quan et al., 2017)

**Tabla 3: Distribución mundial de *E. coli* BLEE (continuación)**

<b>Periodo de Estudio (Año de Publicación)</b>	<b>País/Región</b>	<b>Entorno</b>	<b>% BLEE en <i>E. coli</i></b>	<b>Referencia</b>
<b>2016–2018 (2020)</b>	Egipto (Minia)	Comunidad (ITU de inicio comunitario)	<b>67%</b> (Prevalencia entre aislados de <i>E. coli</i> de ITU de inicio comunitario).	(Hassuna et al., 2020)
<b>2016–2020 (2022)</b>	Global (Meta-análisis)	Comunidad (Portación intestinal)	<b>26.4%</b> (Prevalencia global agrupada).	(Bezabih et al., 2022)
<b>2016–2020 (2022)</b>	Global (Meta-análisis)	Atención Médica (Portación intestinal)	<b>25.7%</b> (Prevalencia global agrupada).	(Bezabih et al., 2022)
<b>2018 (2020)</b>	Sudán (Jartum)	Intrahospitalario	<b>34.8%</b>	(Moglad, 2020)
<b>2018–2019 (2021)</b>	Panamá (Central)	Mixto (Clínico)	<b>43%</b>	(Núñez-Samudio et al., 2021)
<b>2016-2017 (Pub. 2020)</b>	China	Comunidad (CA-ITU)	<b>37.7%</b>	(Jia et al., 2021)

### 3.2 $\beta$ -lactamasas en México a través del tiempo

Los estudios de prevalencia de  $\beta$ -lactamasas realizados en México, a la fecha, han sido limitados a poblaciones específicas y reducidas, es decir, se han recabado y analizado datos principalmente de infecciones de vías urinarias, así como de pacientes hospitalizados.

Los primeros acercamientos en México para la detección de BLEE fueron realizados por Silva y colaboradores. Su estudio llevado a cabo entre 1991 a 1992 en cuatro hospitales de la Ciudad de México, incluyó 43 aislamientos, de los cuales siete correspondieron a *E. coli*. Determinaron todas las cepas fueron resistentes al menos a una cefalosporina de tercera generación. Las BLEE más frecuentes fueron variantes del tipo de SHV (41% de los aislamientos de enterobacterias), por lo que concluyeron que las enzimas tipo TEM y SHV eran responsables de la resistencia a cefalosporinas de tercera generación en la mayoría de los casos.

En el año 2000, se reportó por primera vez la aparición de una nueva  $\beta$ -lactamasa mediada por plásmido, correspondiente al grupo A de Ambler, denominada TLA-1. Esta enzima mostró capacidad de hidrolizar cefaloridina, cefotaxima, cefalotina, bencilpenicilina y ceftazidima, y fue inhibida por sulbactam, tazobactam y ácido clavulánico. TLA-1 se detectó en una cepa de *E. coli* aislada de una muestra de orina de un paciente hospitalizado en Ciudad de México (Silva et al., 2000).

En 2011, Silva-Sánchez y colaboradores publicaron un estudio multicéntrico con aislamientos recolectados entre 1999 y 2005 en ocho hospitales ubicados en los estados de Sonora, Durango, San Luis Potosí, Jalisco, Guerrero, Campeche y Estados de México y Ciudad de México. Se obtuvieron 134 aislamientos clínicos de enterobacterias productoras de BLEE, de los cuales 20 correspondieron a *E. coli* (15%). Las BLEE más frecuentes fueron las tipo SHV (84%), seguidas de TLA-1 (11%) y CTX-M-15 (5%). Además, observaron resistencia ciprofloxacina en el 63% de los aislamientos de *E. coli* y demostraron que 81% de éstos podía conjugarse, transfiriendo resistencia a cefotaxima junto con resistencia a aminoglucósidos, cloranfenicol y tetraciclina. El análisis clonal no mostró agrupaciones claras por hospital. (Silva-Sanchez, Garza-Ramos, et al., 2011)

Ese mismo año, Garza-González y colaboradores reportaron datos sobre la prevalencia y distribución de BLEE en el hospital de tercer nivel “Dr. José Eleuterio González” de Monterrey, México. Entre enero de 2006 y enero de 2009, se recolectaron 342 aislamientos de enterobacterias, incluyendo 80 de *E. coli*. Mediante PCR y secuenciación identificaron BLEE de los tipos SHV, TEM, CTX-M y TLA-1, y evaluaron la diversidad clonal de los aislamientos. El 30% de los aislamientos de *E. coli* fueron productores de BLEE, siendo SHV-5, SHV-12 y CTX-M15 las más predominantes. Sin embargo, no detectaron aislamientos con TLA-1. Respecto a la relación clonal, más del 70% no pudo asignarse a un grupo en específico, evidenciando alta heterogeneidad (Garza-González et al., 2011).

En 2013, Morfin Otero y colaboradores analizaron aislamientos de *E. coli* y *K. pneumoniae* obtenidos entre octubre de 2010 y marzo de 2011 en el Hospital Civil de Guadalajara “Fray Antonio Alcalde”, que brinda atención de tercer nivel. Encontraron que el 16.3% de los aislamientos de *E. coli* fueron productores de BLEE, principalmente CTX-M-15 (85%) y SHV-5 (17%). No se detectó *bla*TLA-1. El análisis plasmídico mostró que la mayoría de los aislamientos albergaba entre uno y cinco plásmidos (Morfin-Otero et al., 2013).

En el 2014, Castro Alarcón y colaboradores publicaron los resultados de aislamientos de *E. coli* recuperados de pacientes con infecciones de tracto urinario adquiridas en la comunidad (CA-UTI), atendidos en hospital ISSSTE de Chilpancingo, Guerrero, entre septiembre de 2010 y agosto de 2011. Encontraron que el 83% de las cepas de *E. coli* producían  $\beta$ -lactamasas y que el 21% producían BLEE. El gen más frecuente fue *bla*<sub>TEM</sub> (94.4%), seguido de *bla*<sub>CTX-M</sub> (50%) y *bla*<sub>SHV</sub> (5.5%). (Castro-Alarcón et al., 2014)

Por otra parte, Barrios y colaboradores (2017) evaluaron 1084 aislamientos de enterobacterias recolectados entre 2005 y 2012 en 14 hospitales de ocho estados y cinco regiones de México. El 62.9% correspondió a *E. coli*. Los genes tipo CTX-M fueron los más frecuentes (73%), particularmente CTX-M-15 (53%), seguido de los SHV (42.8%). En cuanto a los grupos filogenéticos, los más comunes fueron A (56.7%), y D (28%). Este estudio destacó un cambio epidemiológico relevante: *E.*

*coli* se convirtió en la enterobacteria productora de BLEE más frecuente en México, desplazando a *K. pneumoniae* (Barrios et al., 2017).

En 2014, Salame-Khoury y colaboradores identificaron 98 casos de bacteriemia por *E. coli* en dos hospitales de tercer nivel de la Ciudad de México, tanto asociadas al cuidado de la salud como de origen comunitario. De estos casos, 43 aislamientos fueron productores de BLEE: 31 de inicio comunitario y 12 de origen intrahospitalario. (Salame-Khoury et al., 2018)

Entre enero de 2015 a julio de 2016, Jaimes-Vélez y colaboradores estudiaron 103 aislamientos de *E. coli* provenientes de pacientes diabéticos con infecciones de vías urinarias adquiridas en la comunidad, atendidos en el “Nuevo Sanatorio Durango” en la Ciudad de México. De estos, 54 fueron productores de BLEE y 49 no productores de BLEE. (Jaimes-Vélez et al., 2017).

Asimismo, Robles-Torres y colaboradores analizaron 353 urocultivos positivos recolectados entre marzo y octubre de 2017, en un hospital de tercer nivel en Monterrey, México, donde *E. coli* fue el agente causal más común (57.2%), y un 21.5% de las cepas fueron productoras de BLEE (Robles-Torres et al., 2020).

De los estudios más recientes, se encuentra el de Galindo-Méndez y colaboradores (2022) donde analizaron 350 aislamientos de *E. coli* uropatógenos (UPEC) productores de BLEE, provenientes de 18 diferentes laboratorios a lo largo de México, pertenecientes a la red INVIFAR. Encontraron 38 aislamientos resistentes a fosfomicina, de las cuales 36 fueron productoras de BLEE, portando un gen *bla<sub>CTX-M</sub>*. El 94.7% (36/38) de estos aislados resistentes pertenecían al clon O25b-ST131. Mediante ensayos de conjugación, determinaron que los 38 aislados resistentes fueron capaces de transferir horizontalmente el rasgo de resistencia a fosfomicina. Este fue el primer informe de la presencia de genes de resistencia a fosfomicina mediada por plásmidos (*fosA*) en aislados clínicos de *E. coli* en humanos en México (Galindo-Méndez et al., 2022).

### 3.3 Coexistencia de BLEE y PMQR: panorama mundial

Se ha observado una fuerte asociación entre la resistencia a quinolonas y la producción de BLEE (Paterson & Bonomo, 2005). La coexistencia de genes BLEE y PMQR constituye una tendencia epidemiológica preocupante para la salud pública debido a su papel en la rápida diseminación de enterobacterias MDR (Miranda-Romero et al., 2017; Ramírez-Castillo et al., 2018; Salame-Khoury et al., 2018). Entre los vínculos genéticos más relevantes destaca la frecuente asociación del gen *aac(6')Ib-cr* con *bla<sub>CTX-M-15</sub>*, reportada en diversos estudios (Chong et al., 2018; Coque et al., 2008). Asimismo, dicha combinación se ha relacionado con clones pandémicos como *E. coli* ST131, en conjunto con otros genes de resistencia (Chong et al., 2018).

En Europa, se ha observado un aumento de enterobacterias productoras de BLEE que también albergan nuevos mecanismos de resistencia a fluoroquinolonas (Coque et al., 2008).

En Asia, particularmente en China, la alta prevalencia de BLEE (específicamente del tipo CTX-M) en *E. coli* se ha asociado con la diseminación de plásmidos portadores del gen *bla<sub>CTX-M</sub>* junto con el operón *oqxAB* (Quan et al., 2017).

En África, estudios en Tanzania han identificado múltiples secuenciotipos de *E. coli* productores de BLEE que portan genes de resistencia a quinolonas y aminoglucósidos. Estos hallazgos incluyen aislados provenientes de animales domésticos de granja, lo que sugiere el intercambio de MGE.

En Latinoamérica, se ha documentado un aumento en la resistencia a cefalosporinas de tercera generación (Salame-Khoury et al., 2018), así como presencia de múltiples determinantes PMQR en aislados de *E. coli* provenientes de diversas fuentes, como se muestra en la tabla 4.

**Tabla 4.** Distribución de PMQR en aislamientos de *E. coli* recuperados en Latinoamérica de diversas fuentes.

<b>PMQR reportado</b>	<b>Año (n) y país del reporte</b>	<b>Origen (n)</b>
<b><i>qnrB</i></b>	2009 (18) y 2010 (4) en Ecuador; 2009–2012 (9) y (4)* en México 2010–2011 (1) en Uruguay 2008–2009 (5), 2010–2011 (8), y 2014 (4) en Brasil 2011 (9) y 2012–2013 (1) en Bolivia 2007–2008 (3) en Jamaica (7)* en Perú	Pollo (18) Humanos (42) Bovinos (9) Ovinos (1) Agua (3)
<b><i>qnrA1</i></b>	2004 (1), 2005–2009 (1), and 2006–2007 (1) en México	Humanos (3)
<b><i>qnrA</i></b>	2012 (2) en México 2014 (1) en Brasil 2012–2013 (1) en Uruguay (5)* en México 2007–2008 (54) in Jamaica	Tortugas (2) Ovinos (55) Humanos (1) Agua (5)
<b><i>qnrB1</i></b>	2012–2013 (4) en Bolivia 2005–2008 (1) en Argentina 2010–2012 (1) en Uruguay 1996–2011 (4) y 2006–2007 (1) en México	Humanos (11)
<b><i>qnrB19</i></b>	2007 (2) y 2005–2008 (13) en Argentina 2012 (3) en México 2011–2012 (29) en Brasil 2005 (5) en Perú (3)* en Bolivia 2011 (1) y 1996– 2011 (1) en México 2009 (1) en Brasil	Humanos (27) Tortugas (3) Aves de corral (29) Perros (1)

**Tabla 4.** *Distribución de PMQR en aislamientos de E. coli recuperados en Latinoamérica de diversas fuentes.*  
(continuación)

<b>PMQR reportado</b>	<b>Año (n) y país del reporte</b>	<b>Origen (n)</b>
<b><i>qnrB2</i></b>	2010–2012 (1) en Uruguay 2004 (1) en México 2000–2005 (3) y 2010 (1) en Brasil 2010 (2) en Argentina	Humanos (8)
<b><i>qnrB5</i></b>	2011–2012 (4) en Brasil	Aves de corral (4)
<b><i>qnrB10</i></b>	2010 (1) en Argentina	Humanos (1)
<b><i>qnrB6</i></b>	2010 (1) en Argentina 1999–2011 (1) en México	Humanos (2)
<b><i>qnrS</i></b>	2009–2012 (7) y (7)* en México 2007–2008 (24) en Jamaica 2014 (1) y 2010–2011 (1) en Brasil	Bovinos (7) Agua (7) Humanos (25) Pollo (1)
<b><i>qnrS1</i></b>	2007 (1) en Argentina 2011–2012 (2), 2009 (3) y 2010 (1) en Brasil 2005 (4) en Perú 2006–2007 (1) y 2005–2009 (2) en México	Humanos (12) Aves de corral (2)
<b><i>qnrD</i></b>	2014 (1) en Brasil	Ovinos (1)

**Tabla 4.** Distribución de PMQR en aislamientos de *E. coli* recuperados en Latinoamérica de diversas fuentes. (continuación)

<b>PMQR reportado</b>	<b>Año (n) y país del reporte</b>	<b>Origen (n)</b>
<b><i>aac(6`)-Ib-cr</i></b>	2012 (1), 2004 (1), 2005–2009 (54), 2011 (2) y (38)* en México 2004–2009 (78) en Chile (70)* en Perú y Bolivia	Humanos (405) Ambiental (3) Tortugas (1) Aves de corral (1) Agua (5) Equinos (1) Perros (2)
<b><i>oqxA</i></b>	2007 (1) en Argentina 2012–2013 (1) en Brasil 2012–2013 (1) en Bolivia,	Humanos (2) Agua (1)
<b><i>oqxB</i></b>	2007 (1) en Argentina 2012 (1) en México 2012–2013 (1) en Brasil 2012–2013 (1) in Bolivia	Humanos (2) Tortugas (1) Agua (1)
<b><i>qepA1</i></b>	2012–2013 (6) en Bolivia 2006–2007 (4) y 1996–2011 (2) en México 2010 (1) en Argentina	Humanos (13)
<b><i>qepA</i></b>	2011 (4) en Bolivia	Humanos (4)

\*Año no especificado Modificado de Vieira et al., 2020.

### 3.4 Las BLEE y PMQR en México.

Rocha-Gracia y colaboradores reportaron por primera vez en 2009 la coexistencia de genes BLEE y PMQR en una cepa MDR de *E. coli* aislada de una muestra fecal de un paciente ambulatorio en Puebla. El aislamiento albergaba genes *qepA1*, *bla<sub>CTX-M-15</sub>* y *bla<sub>TEM-1b</sub>* y no se detectaron los genes *aac(6')-Ib-cr*, *bla<sub>OXA</sub>*, *bla<sub>SHV</sub>*, *qnrA*, *qnrB* ni *qnrS*. Además se identificaron mutaciones en *gyrA* y *parC*, así como la presencia de un integrón clase 1, y un integrón clase 2 (Rocha-Gracia et al., 2010).

En 2011, Silva-Sánchez y colaboradores estudiaron aislamientos de *E. coli* productores de BLEE, en los cuales determinaron la prevalencia de genes PMQR y mutaciones en las regiones determinante de la resistencia a las quinolonas (quinolone-resistance determining region, QRDR) de los genes *gyrA* y *parC*. Encontraron que la prevalencia de genes *qnr* fue del 21.6% (49/226), de *aac(6')-Ib-cr* del 49.5% (112/226) y de *qepA1* del 1.7% (4/226). En *E. coli*, la prevalencia de *qnr* fue del 1.4% (2/136), mientras que *qepA1* solo se encontró en aislados de *E. coli*. Entre los genes *qnr*, *qnrB* fue el prevalente (71.4% de los *qnr*-positivos). Las BLEE predominantes en aislados positivos a *qnr*, fueron las tipo SHV (81.6%) seguidas de CTX-M-15 (44.9%) y TLA-1 (8.1%). Se observaron mutaciones en *gyrA* en el 69% y en *parC* en el 80% de los aislados *qnr*-positivos. Asimismo, demostraron la cotransmisión de *bla<sub>CTX-M-15</sub>* con *qepA1*, *aac(6')-Ib-cr* y/o *qnrA1*, así como de alelos tipo *bla<sub>SHV</sub>* con genes *qnrB5* y *qnrB6* (Silva-Sanchez, Barrios, et al., 2011).

Nuevamente en el 2013, Silva-Sánchez y colaboradores reportaron los resultados de aislamientos obtenidos entre e 1996 y 2011 de pacientes pediátricos atendidos en cinco hospitales de cuatro regiones de México. Se incluyeron 112 aislamientos de enterobacterias productoras de BLEE, de los cuales 44 correspondieron a *E. coli*. La prevalencia de genes PMQR fue de 32.1% (36/112). Los determinantes *qnr* se detectaron en el 15.1% (17/112), principalmente *qnrB* (93.3%) y en menor medida, *qnrA1* (6.4%). La prevalencia de *aac(6')-Ib-cr* fue del 15.1% y de *qepA* del 1.7%. En *E. coli*, los determinantes *qnr* tuvieron una prevalencia del 13.6% (6/44), *aac(6')-Ib-cr* no fue detectado y *qepA* se encontró en el 4.5%. La BLEE más frecuente entre los aislados *qnr*- y *qepA*-positivos, fue CTX-M-15 (70.5%). Se identificaron

mutaciones en *gyrA* en el 41.1% y en *parC* en el 35.2% de los aislados *qnr*-positivos. En conjunto, se observó que la prevalencia de genes PMQR en aislados pediátricos fue menor que la reportada en adultos en México (Silva-Sánchez et al., 2013).

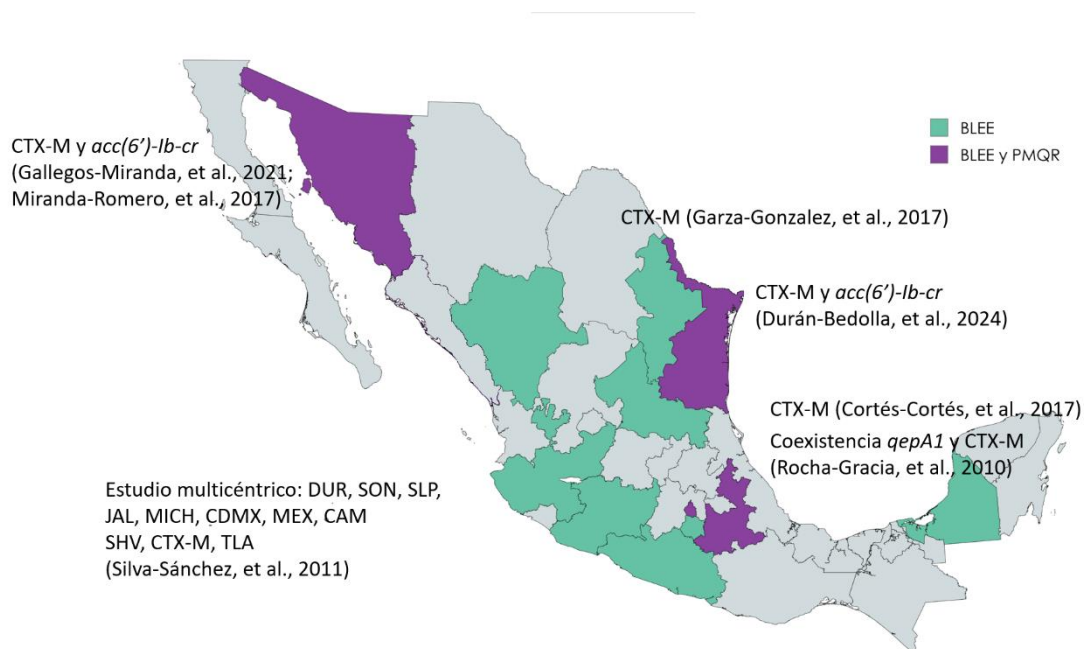
Miranda-Romero y colaboradores (2017) recolectaron 37 aislamientos de *E. coli* productores de BLEE de dos hospitales, y de la comunidad en Ciudad Obregón, Sonora, obtenidos entre 2011 y 2014. Encontraron que la BLEE predominante fue *bla*<sub>CTX-M-15</sub> (97%), seguida de *bla*<sub>SHV-12</sub> (13.5%) y *bla*<sub>TLA-1</sub> (5.5%). En cuanto a los genes PMQR, *aac(6')-Ib-cr* se detectó en el 97% de los aislados, mientras que *qnrB* solo en uno y *qepA* no fue detectado. El grupo filogenético B2, fue el más frecuente (32%). El 56% de los ensayos de conjugación fueron exitosos, con cotransferencia de *aac(6')-Ib-cr* (Miranda-Romero et al., 2017).

Ramírez-Castillo y colaboradores analizaron 110 aislados de *E. coli* causantes de infecciones de tracto urinario, de origen comunitario (79 aislados) y asociadas a la atención de la salud (31 aislados) entre junio y noviembre de 2012, en el Hospital Centenario Miguel Hidalgo en Aguascalientes. Determinaron la presencia de genes BLEE, PMQR, grupos filogenéticos, entre otras variables. Los genes PMQR detectados incluyeron *qnrA* (22%), *qnrB* (20.9%) y *aac(6')-Ib-cr* (6.4%), mientras que *qepA* no fue detectado. Además, se observaron mutaciones dobles en *gyrA* y en *parC* en el 92% de las cepas evaluadas. Las BLEE detectadas fueron *bla*<sub>CTX-M</sub> (12.7%, incluyendo CTX-M-15, CTX-M-12, CTX-M-3, CTX-M-14), *bla*<sub>TEM</sub> (18.2%), *bla*<sub>PSE</sub> (2.7%) y *bla*<sub>OXA</sub> (9.1%) (Ramírez-Castillo et al., 2018).

Gallegos-Miranda y colaboradores recolectaron 1785 aislados clínicos de enterobacterias recolectados entre febrero y agosto de 2016 en cuatro instituciones de salud de Hermosillo, Sonora. Encontraron que la prevalencia de *E. coli* productora de BLEE fue del 11.9%. Se observó alta resistencia a ciprofloxacina (88%), trimetoprima/sulfametoxazol (72%) y aminoglucósidos (59%), mientras que se mantuvo susceptibilidad a meropenem, amikacina y tigeciclina. En *E. coli*, el grupo mayoritario de BLEE correspondió a CTX-M-1 (86.3%). El gen PMQR más frecuente fue *aac(6')-Ib-cr* (62%), seguido de *qnrB* (31.1%) y *qnrS* (13.3%). La tipificación clonal por PFGE, reveló numerosos clones no relacionados. En general,

el filogrupo más frecuente fue D (46%), aunque el filogrupo también predominó en aislamientos de *E. coli* de instituciones de salud (50%) (Gallegos-Miranda et al., 2021).

Entre enero y diciembre de 2018, Duran-Bedolla y colaboradores analizaron 103 aislamientos únicos de *E. coli*, provenientes de un total de 1002 cepas recolectadas en la Unidad Médica Familiar #33 y Hospital General Regional IMSS #270 en Tamaulipas. Determinaron una prevalencia de BLEE de 10%. Las fuentes primarias fueron infecciones del tracto urinario (71%) y secreciones vaginales (22%). Los aislados mostraron un perfil multirresistente. La presencia de genes *aac(6′)-Ib* y *qnr* se asoció con resistencia del 100% a ciprofloxacina en los aislamientos productores de BLEE. El filogrupo B2 fue el más frecuente (42%), y el 23% de estos correspondió al clon pandémico O25b-ST131. Los genotipos de BLEE prevalentes fueron CTX-M y SHV, frecuentemente en combinación con genes PMQR como *aac(6′)Ib-cr* y *qnr* (Duran-Bedolla et al., 2024).



**Figura 5. Distribución de las BLEE y PMQR en México.** Adaptado de la información de Cortés-Cortés et al., 2017; Duran-Bedolla et al., 2024; Gallegos-Miranda et al., 2021; Garza-González et al., 2021; Miranda-Romero et al., 2017; Rocha-Gracia et al., 2010; Silva-Sanchez, Garza-Ramos, et al., 2011.

### **3.5 Resistencia antimicrobiana en Mexicali y BLEE.**

Los estudios sobre la resistencia antimicrobiana en Mexicali han sido limitados. El primero en determinar la prevalencia de *E. coli* productora de BLEE en la localidad fue por Martínez-Miranda y colaboradores (2018). En este estudio se analizaron 500 urocultivos, de los cuales 404 (80.5%) presentaron *E. coli* como agente etiológico principal. Los aislamientos uropatógenos analizados fueron obtenidos de CA-UTI en diversas instituciones de salud. Un total de 83 cepas de *E. coli* expresaron BLEE, lo que representó el 88.7% de las cepas BLEE. Además, se observó un incremento en la resistencia a quinolonas y trimetoprima/sulfametoxazol en las cepas productoras de BLEE, alcanzando valores del 87% y 64%, respectivamente (Martínez Miranda et al., 2018).

Más recientemente, un estudio retrospectivo entre enero 2019 y diciembre 2021, analizó el perfil de resistencia de enterobacterias, incluyendo 2234 aislamientos de *E. coli*. De estos, 840 aislamientos de *E. coli* (37.6%) fueron identificados como productores de BLEE. Entre los aislados productores de BLEE, la resistencia a ciprofloxacina alcanzó el 90.4%, lo que indica un nivel significativo de corresponsencia. La resistencia general de *E. coli* a ciprofloxacina fue del 55.5%. En los casos de ITU, *E. coli* mostró resistencia a ciprofloxacina de 55.5% y a ceftriaxona de 38.9%. Sin embargo, fosfomicina mantuvo una alta actividad *in vitro* contra *E. coli* con una tasa de resistencia de solo 3.9%. Los aislamientos de *E. coli*, mostraron una tasa de resistencia del 6.5% a nitrofurantoína, la cual es otra opción de tratamiento para cistitis. También se identificó un aislado de *E. coli* resistente a carbapenémicos procedente de un caso de ITU en 2021. Los aislados productores de BLEE fueron más frecuentes en *E. coli* asociada a infecciones del tracto respiratorio inferior (65.8%) y de tejidos blandos (55.3%) (Márquez-Salazar et al., 2025).

#### 4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La RAM ha aumentado de manera significativamente en las últimas décadas (Garza-González et al., 2021), particularmente en bacterias gramnegativas como *E. coli*, uno de los principales agentes etiológicos de infecciones adquiridas tanto en la comunidad y asociadas a la atención de la salud (Coque et al., 2008; Núñez-Samudio et al., 2021) (Bezabih et al., 2022). Este incremento representa un desafío prioritario para la salud pública mundial debido a la reducción de opciones terapéuticas efectivas y al aumento de las tasas de mortalidad y morbilidad asociadas (Barrios et al., 2017; Miranda-Romero et al., 2017; Peirano & Pitout, 2019).

En este contexto, se ha documentado un incremento de cepas MDR, especialmente aquellas que presen resistencia a  $\beta$ -lactámicos y quinolonas (Miranda-Romero et al., 2017; Ramírez-Castillo et al., 2018; Salame-Khoury et al., 2018), dos clases de antibióticos ampliamente utilizadas en el tratamiento empírico de infecciones comunes como las de ITU. En México, y en particular en la región noroeste, diversos estudios han reportado altas tasas de *E. coli* productoras de BLEE y con mecanismos de resistencia a fluoroquinolonas (Gallegos-Miranda et al., 2021; Miranda-Romero et al., 2017), lo que limita de manera significativa las alternativas terapéuticas disponibles para el manejo clínico.

A pesar de esta tendencia, en la comunidad fronteriza de Mexicali, Baja California, la información existente sobre los mecanismos de resistencia de *E. coli* se limita a estudios fenotípicos (Márquez-Salazar et al., 2025; Martínez Miranda et al., 2018). No se dispone de una caracterización molecular que permita identificar los genes de resistencia, su posible origen y la presencia de MGE relacionados a la multiresistencia. Esta falta evidencia molecular dificulta comprender la dinámica local de emergencia y diseminación de dichos mecanismos y limita la capacidad para generar estrategias de vigilancia y contención basadas en evidencia.

Las condiciones particulares de Mexicali, como su ubicación en frontera México-Estados Unidos, el alto flujo migratorio, la convivencia diaria de prácticas de atención médica entre dos países y las diferencias en la regulación y acceso a

antibióticos, configuran un ambiente epidemiológico complejo que podría favorecer la emergencia y dispersión local de mecanismos de resistencia no detectados previamente. La ausencia de estudios moleculares y de una vigilancia robusta de la RAM, propicia la circulación silenciosa de cepas MDR, lo puede comprometer la efectividad de tratamientos empíricos y prolongar estancias hospitalarias así como aumentar complicaciones graves en pacientes (O'Neill, 2014).

A pesar de que la resistencia a  $\beta$ -lactámicos y quinolonas en *E. coli* representa un problema creciente y clínicamente relevante, actualmente no se cuenta con estudios con que evalúen el perfil molecular de farmacorresistencia en aislamientos clínicos provenientes de la comunidad de Mexicali. Por lo tanto, la falta de información limita la toma de decisiones clínicas, el diseño de políticas de control y la implementación de estrategias de vigilancia epidemiológica en la región fronteriza.

## 5. JUSTIFICACIÓN

El estudio de los mecanismos moleculares de *E. coli* MDR es fundamental para comprender la complejidad de la resistencia antimicrobiana en contextos regionales específicos. En Mexicali, Baja California, la situación adquiere particular relevancia debido a su ubicación fronteriza, que facilita la interacción constante entre poblaciones, prácticas clínicas y entornos epidemiológicos de México y Estados Unidos. Este intercambio fronterizo puede acelerar la introducción, adaptación y diseminación de genes de resistencia como BLEE y PMQR.

La resistencia a  $\beta$ -lactámicos y quinolonas es de especial interés porque ambas familias son agentes de amplio espectro y son utilizadas para el tratamiento empírico de infecciones adquiridas en la comunidad. La presencia de mecanismos de resistencia no detectados incrementa el riesgo de fracaso terapéutico, reduce las opciones de tratamiento y favorece la propagación de cepas MDR en la población (Barrios et al., 2017; Miranda-Romero et al., 2017; Peirano & Pitout, 2019)

Actualmente, Mexicali carece de estudios que caractericen de manera integral la base genética de la resistencia en *E. coli* comunitaria. Esto representa una limitación para la vigilancia epidemiológica, y el diseño de esquemas terapéuticos empíricos adecuados. Contar con evidencia local es esencial para identificar patrones de transmisión.

Este trabajo atiende una problemática prioritaria en salud pública y aporta evidencia para la contención de la RAM en un punto estratégico como lo es la frontera norte de México.

## 6. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

### 6.1 Hipótesis

Las cepas de *E. coli* MDR aisladas de muestras clínicas en la comunidad de Mexicali, albergan genes para BLEE y PMQR

### 6.2 Objetivo General

Determinar el perfil molecular de farmacorresistencia a  $\beta$ -lactámicos y quinolonas de aislamientos clínicos de *E. coli* MDR de la comunidad fronteriza de Mexicali, Baja California.

### 6.3 Objetivos Específicos

- 6.3.1 Identificar fenotípica y molecularmente aislados clínicos de *E. coli* productores de BLEE obtenidos de ITU en la comunidad de Mexicali, Baja California de enero a diciembre de 2023.
- 6.3.2 Determinar el perfil de resistencia a  $\beta$ -lactámicos y quinolonas de los aislados clínicos de estudio mediante el método de microdiluciones.
- 6.3.3 Determinar el perfil de resistencia molecular a  $\beta$ -lactámicos (*bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub> y *bla*<sub>CTX-M</sub>) y quinolonas (*qepA*, *oqxA*, *oqxB*, *qnrB*, *aac(6')-Ib*) de los aislados clínicos.
- 6.3.4 Determinar el grupo filogenético de los aislados clínicos mediante PCR punto final.
- 6.3.5 Determinar la relación clonal de los aislados clínicos de *E. coli* obtenidos en este estudio mediante ERIC-PCR.
- 6.3.6 Generar un cepario de todos aislamientos obtenidos.

## **7. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **7.1 Diseño del estudio**

El presente es un estudio prospectivo de cohorte. Se recolectaron aislados clínicos de CA-UTI durante 12 meses, cubriendo el periodo de enero a diciembre de 2023.

### **7.2 Descripción de la población.**

Se realizó en la ciudad de Mexicali. La ciudad es la capital del estado de Baja California, México, localizado en 32°37'40.1" N 115°27'16.1" O (*Coordenadas Geográficas de Mexicali - Latitud y Longitud*, 2020), en la frontera colindante con el estado de California, Estados Unidos. El clima es muy seco y cuenta con 1,049,792 habitantes (Gobierno de México, 2020)

La recolección de los aislados clínicos se realizó en colaboración con un laboratorio clínico privado de Mexicali, el cual recibe y procesa muestras de pacientes ambulatorios y hospitalizados. En conjunto con los aislados clínicos, se obtuvieron los datos de identificación de la especie de microorganismo, así como la determinación del fenotipo BLEE y el perfil de antibiograma.

#### **7.3.1 Criterios de inclusión**

Aislamientos únicos de *E. coli* proveniente de urocultivos positivos (con inóculo mayor a 100,000 UFC) de pacientes con infecciones adquiridas en la comunidad con fenotipo BLEE y que muestren resistencia a ciprofloxacina.

#### **7.3.2 Criterios de exclusión**

Aislamientos de cepas de *E. coli* BLEE aisladas de muestras biológicas de infecciones comunitarias en las cuales sea aislado más de un microorganismo o que no muestren resistencia a Ciprofloxacino. Aislados clínicos de pacientes con infecciones asociadas a la atención de la salud (IAAS). Aislados clínicos de orina con inóculo menor a 100,000 UFC, así como aislamientos provenientes de otras fuentes biológicas, no biológicas o ambientales, y análisis duplicados.

#### **7.4 Transporte de las muestras**

Los medios de cultivo donde fueron aisladas las cepas confirmadas con los criterios de inclusión antes mencionados fueron transportados al Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina, una vez por semana, conservando la cadena de frío.

#### **7.5 Preparación y almacenamiento de los aislamientos**

Se colectó una colonia aislada del medio de cultivo y se inoculó en agar Soya Trypticaseína (AST). Posteriormente, el cultivo fue incubado durante 24 horas a 35°C hasta alcanzar la fase estacionaria de crecimiento en cultivo puro. Se realizó una suspensión en Caldo Soya Trypticaseína (CST) adicionado con 15% de glicerol, y posteriormente incubado durante 24 h, a 35°C para aumentar el inóculo (Jorgensen & Pfaller, 2015).

El almacenamiento del aislamiento cultivado previamente en CST, se realizó en dos alícuotas de 1.5 mL en crio-viales de 2 mL. Las suspensiones fueron congeladas a -70° C durante 1 hora previo a pasar a ser resguardadas. Las alícuotas se almacenaron en nitrógeno líquido y en congelación a -70° C hasta su posterior análisis.

#### **7.6 Confirmación fenotípica de *E. coli*.**

Las cepas fueron descongeladas e inoculadas mediante estría múltiple de forma simultánea en AST y Agar MacConkey para verificar su pureza. Posteriormente fueron incubadas a 37°C durante 24 horas. Se seleccionaron las colonias más aisladas para realizar frotis y tinción Gram, e identificar su morfología y las características de su pared celular. *E. coli* se observa como bacilos teñidos de rojo (es decir, gramnegativos). (Jorgensen & Pfaller, 2015),

A partir de las colonias aisladas, se realizó una batería de pruebas bioquímicas, para corroborar la identidad del aislamiento, como se muestra en la Tabla 5. La inoculación e interpretación de las pruebas bioquímicas, se encuentra en el Anexo A.

**Tabla 5.** *Batería de pruebas bioquímicas realizadas para identificar aislamientos de E. coli.*

<b>Prueba Bioquímica</b>	<b>Característica que evalúa</b>	<b>Resultado esperado</b>
<b>SIM</b>	Motilidad	<b>+</b>
	Producción de indol	<b>+</b>
	Producción de sulfuro de hidrógeno	<b>-</b>
<b>LIA</b>	Descarboxilación de Lisina	<b>+</b>
	Desaminación de Lisina	<b>-</b>
<b>TSI</b>	Fermentación de Glucosa	<b>+</b>
	Fermentación de Lactosa	<b>+</b>
	Producción de gas	<b>+</b>
<b>Malonato</b>	Uso de malonato como	<b>-</b>
<b>Citrato de Simmons</b>	Uso de citrato como Fuente de carbono	<b>-</b>

+ : Positivo; - : Negativo; SIM: Sulphur – Indol – Motility (Azufre, Indol, Motilidad); LIA: Lisine – Iron – Agar (Agar Lisina Hierro); TSI: Triple Sugar Agar (Agar triple azúcar).

### **7.7 Extracción de ADN de cultivos puros de aislamientos bacterianos.**

Las colonias que presentaron las características bioquímicas esperadas, fueron inoculadas en CST para realizar un cultivo durante toda la noche (over night, 12-18 horas).

El procedimiento de Extracción de ADN se encuentra detallado en el Anexo B. Se utilizó el kit "Plasmid DNA extraction" (GeneNano, Rochester, New York, US) con un protocolo modificado para la obtención tanto de ADN cromosomal como plasmídico. La pureza y concentración del ADN extraído fue determinada mediante NanoDrop-1000 Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham Massachusetts, US). Todas las extracciones mostraron una relación A260/280 (relación ADN/proteínas) superior a 1.8; las extracciones fueron diluidas en agua destilada estéril libre de ADNasas hasta ajustar su concentración en un rango de 100 – 200 ng/μL. El material genético extraído se almacenó en congelación (-20°C) hasta su posterior análisis.

### **7.8 Identificación molecular de *E. coli*: Detección del gen *ybbW* por PCR punto final.**

Para confirmar la identidad molecular de los aislamientos, se amplificó mediante PCR multiplex al gen *ybbW* que codifica para un receptor de alantoína que es altamente específico para *E. coli*, a su vez que se amplifica el gen *glgX* que codifica para la síntesis de glucógeno (Dauvillée et al., 2005) y se encuentra mayormente en *Leclercia adecarboxylata* quien tiene un perfil bioquímico muy similar a *E. coli*. Las condiciones son descritas en la Tabla 6.

**Tabla 6.** *Secuencia de iniciadores y tamaño de productos de PCR utilizados en este estudio para la confirmación molecular de E. coli*

Target		Secuencia del iniciador (5' to 3')	Temperatura de alineación (°C)	Tamaño del fragmento (bp)	Referencia
<i>ybbW</i>	Forward	TGATTGGCAAATCTGGCCG	60	667	(Walker et al., 2017)
	Reverse	ATACTGGCAATCAGTACGCC			
<i>glgX</i>	Forward	GCACGGTGTATGTGTATTCCAG		327	
	Reverse	TCCTCACTGAAGAACGACCAG			

La mezcla de reacción se realizó con un volumen final de 10 uL con las siguientes características: 5.0 uL de Master Mix (contiene dNTPs, MgCl<sub>2</sub> y Taq Polimerasa), 0.5 uL de cada oligonucleótido (*ybbw*-F, *ybbw*-R, *glgX*-F, *glgX*-R), 2.0 uL de agua destilada estéril libre de ADNasas y 1.0 uL del extracto de ADN.

### 7.9 Amplificación de secuencias de genes de BLEE tipo TEM, CTX-M y SHV y PMQR (*qepA*, *qnrB*, *oqxA*, *oqxB* y *aac(6')-Ib*) por PCR punto final

La mezcla de reacción se realizó con un volumen final de 10 uL con las siguientes características: 5.0 µL de Master Mix (contiene dNTPs, MgCl<sub>2</sub> y Taq Polimerasa), 0.5 µL del par de oligonucleótidos correspondiente (en reacciones individuales: TEM-F, TEM-R, SHV-F, SHV-R, *qepA*-F, *qepA*-R, *qnrB*-F, *qnrB*-R, *oqxA*-F, *oqxA*-R, *oqxB*-F, *oqxB*-R), 3.0 µL de agua destilada estéril libre de ADNasas y 1.0 µL del extracto de ADN. Para reacciones multiplex, se realizaron con los mismos volúmenes de los componentes con excepción del agua, utilizando 2.0 µL para las reacciones de CTX-M 1 y 8 + CTX-M 9; CTX-M2 + CTX-M151. Los oligonucleótidos y condiciones de PCR son mostrados en la Tabla 7.

**Tabla 7.** Secuencia de iniciadores y tamaño de los productos de PCR utilizados en este estudio para genes BLEE y PMQR.

Gen	Primer ID	Secuencia del iniciador (5' to 3')	Temperatura de alineación (°C)	Tamaño del fragmento (bp)	Referencia
<b>TEM</b>	Forward	CAACATTTTCGTGTCGCCC	55	844	(Arlet & Philippon, 1991)
	Reverse	GCTTAATCAGTGAGGCACC			
<b>SHV</b>	Forward	TATTATCTCCCTGTTAGCCA	58	783	(Garza-González et al., 2021)
	Reverse	CGCTCTGCTTTGTTATTC			
<b>CTX-M 1 y 8 grupo</b>	Forward	TGTGCAGYACCAGTAARGYKATG	55	583	(Garza-González et al., 2021)
	Reverse	TARRTSACCAGAAAYVAGCGGC			
<b>CTX-M 1 grupo</b>	CTX-M13U	GGTTAAAAAATCACTGCGYC	50	843	(Briñas et al., 2005)
	CTX-M13D	TTGGTGACGATTTTAGCCGC			
<b>CTX-M 9 grupo</b>	Forward	ATGGTGACAAAGAGAGTGCAA	55	747	(Garza-González et al., 2021)
	Reverse	AATATCATTGGTGGTGCCGTAG			
<b>CTX-M 2 grupo</b>	Forward	CGATGTGCAGTACCAGTAAGG	55	540	(Garza-González et al., 2021)
	Reverse	CGATATCGTTGGTGGTGC			
<b>CTX-M 151</b>	Forward	GCGGCCATGATAGGTACG	55	786	(Garza-González et al., 2021)
	Reverse	AAAGTAAGTCACAATAACCAGCG			
<b>qepA</b>	Forward	GCAGGTCCAGCAGCGGGTAG	60	617	(Qin et al., 2017)
	Reverse	CCA CTG CTT GAG CCC GTA G			

**Tabla 7.** *Secuencia de iniciadores y tamaño de los productos de PCR utilizados en este estudio para genes BLEE y PMQR*

<b>Gen</b>	<b>Primer ID</b>	<b>Secuencia del iniciador (5' to 3')</b>	<b>Temperatura de alineación (°C)</b>	<b>Tamaño del fragmento (bp)</b>	<b>Referencia</b>
<b><i>qnrB</i></b>	Forward	GAT CGT GAA AGC CAG AAA GG	53	594	(Qin et al., 2017)
	Reverse	ACG ATG CCT GGT AGT TGT CC			
<b><i>oqxA</i></b>	Forward	CTC GGC GCG ATG ATG CT	45	392	(El-Badawy et al., 2017)
	Reverse	CCA CTC TTC ACG GGA GAC GA			
<b><i>oqxB</i></b>	Forward	TTC TCC CCC GGC GGG AAG TAC	64	594	(El-Badawy et al., 2017)
	Reverse	CTC GGC CAT TTT GGC GCG TA			
<b><i>aac(6')-Ib</i></b>	Forward	TTG CGA TGC TCT ATG AGT GGC TA	54	482	(El-Badawy et al., 2017)
	Reverse	CTC GAA TGC CTG GCG TGT TT			

Posterior a la amplificación, se realizó electroforesis en gel de agarosa 1.5% de los productos de PCR y se reveló el gel con solución de bromuro de etidio por 15 minutos. Se visualizó bajo luz ultravioleta y se toma una imagen con el fotodocumentador para la búsqueda de los fragmentos de tamaño específico de cada gen para confirmar su ausencia o presencia en cada una de las cepas.

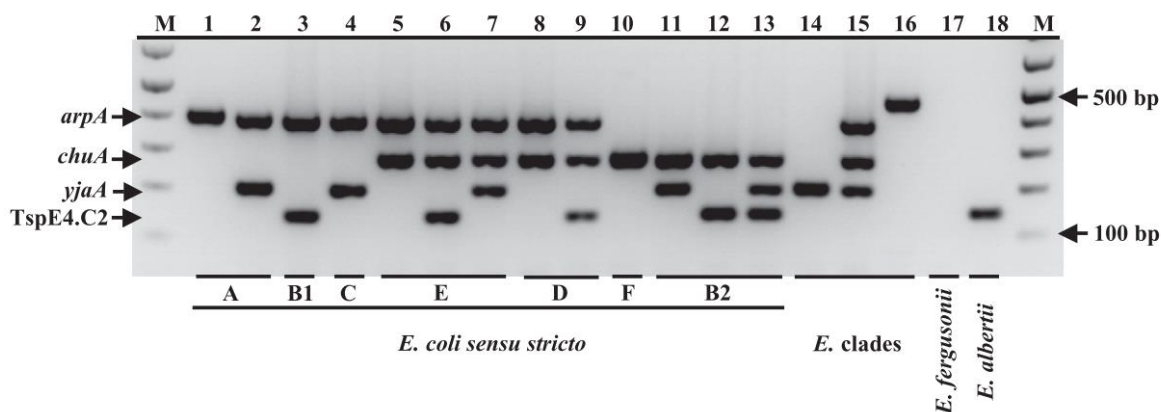
### 7.10 Determinación de grupo filogenético mediante PCR cuádruplex de punto final.

Se determinó el grupo filogenético de acuerdo al método previamente descrito por Clermont y colaboradores (2013), basado en la detección de los genes *arpA*, *chuA*, *yjaA*, y el fragmento cromosómico *TspE4.C2*. los cuales se enlistan en la Tabla 8.

**Tabla 8.** Secuencia de los iniciadores y tamaño de los productos de PCR utilizados para determinación de filogrupo por PCR cuádruplex. Tomado de Clermont, 2013.

Gen	Primer ID	Secuencia del iniciador (5' to 3')	Temperatura de alineación (°C)	Tamaño del fragmento (bp)
<i>chuA</i>	chuA.1b	ATGGTACCGGACGAACCAAC	59.0	288
	chuA.2	TGCCGCCAGTACCAAAGACA		
<i>yjaA</i>	yjaA.1b	CAAACGTGAAGTGTCAGGAG		211
	yjaA.2b	AATGCGTTCCTCAACCTGTG		
<i>TspE4.C2</i>	TspE4.C2.1b	CACTATTCGTAAGGTCATCC		152
	TspE4.C2.2b	AGTTTATCGCTGCGGGTTCGC		
<i>arpA</i>	AceK.f	AACGCTATTCGCCAGCTTGC		400
	ArpA1.r	TCTCCCCATACCGTACGCTA		

Los productos de PCR fueron separados por electroforesis en geles de agarosa al 1.5% y revelados durante 15 minutos en solución de bromuro de etidio. Los patrones de banda se compararon con la Figura 6, para determinar el grupo filogenético.



**Figura 6.** PCR cuádruplex de acuerdo al nuevo método de filotipificación de Clermont. M= Marcador de peso molecular; 1 y 2 = Grupo A; 3 = Grupo B1; 4 = Grupo C; 5, 6 y 7 = Grupo E; 8 y 9 = Grupo D; 10 = Grupo F; 11, 12 y 13 = Grupo B2. Tomado de Clermont, 2013.

Como el patrón de bandas para el grupo A y grupo C es similar, se realizó una segunda PCR en la cual se determina el grupo C específicamente. En caso de no observar amplificación, el aislado corresponde al grupo A. Las condiciones de PCR se enlistan en la Tabla 9.

**Tabla 9.** Secuencia de los iniciadores y tamaño de los productos de PCR utilizados para determinación de filogrupos C por PCR. Tomado de Clermont, 2013.

Gen	Primer ID	Secuencia del iniciador (5' to 3')	Temperatura de alineación (°C)	Tamaño del fragmento (bp)
<i>trpA</i>	trpAgpC.1	AGTTTTATGCCAGTGCGAG	59.0	219
	trpAgpC.2	TCTGCGCCGGTCACGCC		

### 7.11 Determinación de diversidad clonal, mediante ERIC-PCR

Se realizó reacción en cadena de la polimerasa para regiones repetitivas de consenso intergénicas en enterobacterias (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus Polymerase Chain Reaction) en los aislamientos para determinar la diversidad genética. El volumen final de reacción se estableció en 10 µL, con volúmenes de reactivos igual que los antes mencionados para reacciones individuales. Las condiciones específicas de reacción se mencionan en la Tabla 10. Se incluyó como referencia a la cepa *E. coli* ATCC 25922.

**Tabla 10.** *Secuencia de los iniciadores ERIC-PCR. Tomado de Versalovic, 1991.*

<b>Primer ID</b>	<b>Secuencia del iniciador (5' to 3')</b>	<b>Temperatura de alineación (°C)</b>
<b>ERIC 1</b>	ATGTAAGCTGGGGATTAC	50
<b>ERIC 2</b>	AAGTAAGTGACTGGG GTGG	

Posteriormente se realizó electroforesis en agarosa 2% para la visualizar las bandas. El patrón de bandas se comparó a través de software GelJ (Heras et al., 2015) para generar un archivo Newick y producir una representación gráfica utilizando iTOL (Letunic & Bork, 2021).

### 7.12 Registro de datos

Los datos de los aislamientos se registraron en una bitácora de “Cepario” y se les asignó un número de identificación consecutivo por orden de llegada. Algunas de las variables recopiladas asociadas a cada aislamiento son:

- Tipo de muestra: Orina, Bronquial, Sangre, Herida, Líquido corporal, etc
- Origen de la muestra: nosocomial o comunitario.
- Microorganismo aislado: género y especie
- Perfil de antimicrobiograma: registro de Concentración mínima inhibitoria (CMI) y su interpretación (Resistente, Intermedio, Sensible o No analizado)

Además, se registraron los datos asociados a la muestra como fecha de recolección, así como edad y género del paciente de donde proviene el microorganismo aislado.

Se diseñó una base de datos en una hoja de cálculo en Excel para la captura y manejo de la información, donde se introdujeron los datos codificados como se indica a continuación (Figura 7)

- Tipo de muestra: Orina = 1, Herida = 2, Sangre = 3, Bronquial = 4, Líquido corporal = 5
- Origen de la muestra: comunitario = 1, nosocomial= 2
- Microorganismo aislado: género y especie
- Perfil de antimicrobiograma: No analizado = 0, Sensible = 1, Intermedio = 2, Resistente =3
- Género del paciente: Femenino = 1, Masculino = 2

IDENTIFICACIÓN	FECHA LLEGADA	TIPO DE MUESTRA	MICROORGANISMO	ORIGEN	FECHA TOMA DE MUESTRA	No. ORIGEN	EDAD	GÉNERO	AM Ampicilina RESULTADO	AM Ampicilina INTERPRETACIÓN
75	13/02/2023	BRONQUIAL	Pseudomonas aeruginosa	1	10/02/2023		39	2	0	0
76	13/02/2023	UROCULTIVO	Escherichia coli	1	10/02/2023		74	2	0	0
77	13/02/2023	UROCULTIVO	Escherichia coli	1	11/02/2023		82	1	>=32	3
78	13/02/2023	UROCULTIVO	Escherichia coli	1	9/02/2023		75	1	0	0
79	13/02/2023	HERIDA	Klebsiella pneumoniae	1	9/02/2023		46	2	0	0
80	20/02/2023	UROCULTIVO	Escherichia coli	1	13/02/2023		79	2	>=32	3
81	20/02/2023	UROCULTIVO	Escherichia coli	1	15/02/2023		85	2	0	0
82	20/02/2023	BRONQUIAL	Pseudomonas aeruginosa	1	14/02/2023		40	1	0	0
83	20/02/2023	UROCULTIVO	Escherichia coli	1	16/02/2023		67	1	>=32	3

**Figura 7. Formato de almacenamiento de datos del Cepario.**

### 7.13 Análisis estadístico.

La prevalencia de los genes BLEE y en PMQR en cepas de *E. coli* productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido se determinó a partir del cociente de número de casos positivos a cada gen de resistencia, entre el número de muestras analizadas utilizando el programa Statistix 9. Los análisis inferenciales fueron realizados con el software Prism - Graphpad aplicando la prueba de Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) de Pearson, con un valor de significancia del 0.05.

## 8. RESULTADOS

Se recolectaron 89 aislados de *E. coli* CA-UTI. La distribución de los aislamientos por grupo de edad y género se muestra en la Tabla 11. Los aislamientos provinieron mayormente de pacientes femeninas (66.3%) y solo el 33.7% de pacientes masculinos. En ambos casos, los mayores aislamientos se encontraron en el grupo de 55 a 64 años y el 65.2% de las muestras fue de pacientes de 55 años o más.

**Tabla 11.** *Distribución de aislamientos de E. coli CA-UTI por sexo y grupo etario.*

<b>Edad</b>	<b>Femenino</b>	<b>Masculino</b>
<b>&lt; 4</b>	3	0
<b>5 - 14</b>	0	0
<b>15 - 24</b>	0	0
<b>25 - 34</b>	3	1
<b>35 - 44</b>	9	0
<b>45 - 54</b>	9	6
<b>55 -64</b>	11	9
<b>65 - 74</b>	9	6
<b>75 - 84</b>	8	6
<b>85 - 94</b>	5	2
<b>&gt; 95</b>	2	0

La edad está expresada en años. n=89

**Tabla 12.** Perfil de resistencia antimicrobiano de los aislamientos clínicos de *E. coli* recuperados de pacientes de la comunidad.

Clase	Antimicrobiano			
		S	I	R
Aminoglucósido	Amikacina	86/89 96.6%	1/89 1.1%	2/89 2.2%
	Gentamicina	37/88 42.0%	0/88 0.0%	51/88 57.9%
β-lactámico e inhibidor de β-lactamasas	Ceftazidima / Avibactam	79/79 100%	0/79 0.0%	0/79 0.0%
	Ampicilina / Sulbactam	0/89 0.0%	0/89 0.0%	89/89 100%
Carbapenémicos	Doripenem	3/3 100%	0/3 0.0%	0/3 0.0%
	Ertapenem	88/88 100%	0/88 0.0%	0/88 0.0%
	Imipenem	5/5 100%	0/5 0.0%	0/5 0.0%
	Meropenem	89/89 100%	0/89 0.0%	0/89 0.0%
Cefalosporinas	Cefepima	1/89 1.12%	0/89 0.0%	88/89 98.8%
	Cefotaxima	0/83 0.0%	0/83 0.0%	83/83 100%
	Ceftazidima	0/87 0.0%	0/87 0.0%	87/87 100%
	Ceftriaxona	0/89 0.0%	0/89 0.0%	89/89 100%
	Cefuroxima	1/89 1.12%	0/89 0.0%	88/89 98.8%
	Cefalotina	0/46 0.0%	0/46 0.0%	46/46 100%
Nitrofuranos	Nitrofurantoina	81/89 91.0%	7/89 7.8%	1/89 1.1%
Penicilinas	Ampicilina	0/33 0.0%	0/33 0.0%	33/33 100%
Derivados del ácido fosfórico	Fosfomicina	83/88 94.3%	1/88 1.1%	4/88 4.5%
Quinolonas	Ciprofloxacina	0/89 0.0%	0/89 0.0%	89/89 100%
	Levofloxacina	0/88 0.0%	0/88 0.0%	88/88 100%
Sulfonamidas	Trimetoprima/ Sulfametoxazol	35/89 39.3%	0/89 0.0%	54/89 60.6%

S = Susceptible; I = Intermedio; R = Resistente.

## **8.1 Perfil de Resistencia Antimicrobiana**

Todos los aislados mostraron resistencia a ampicilina, ceftazidima, cefalotina, ciprofloxacina, ceftriaxona, cefotaxima, levofloxacina y ampicilina/sulbactam. En contraste, todos los aislados fueron susceptibles a los carbapenémicos evaluados (doripenem, ertapenem, imipenem y meropenem) y a ceftazidima/avibactam. La Tabla 12 muestra el perfil de resistencia detallado de los aislamientos analizados.

Los datos se muestran como el número de incidencias entre el total de aislados analizados para cada agente antimicrobiano; en la segunda fila, se encuentra el porcentaje correspondiente.

Se identificaron 29 perfiles de resistencia antimicrobiana distintos (Tabla 13). Estos perfiles comparten resistencia a las penicilinas combinadas con un inhibidor de  $\beta$ -lactamasas, cefalosporinas y quinolonas.

**Tabla 13.** Frecuencia de los resistotipos encontrados en los aislados de *E. coli* CA-UTI. n=89

<b>Resistotipo</b>	<b>No. de aislamientos</b>
CAZ, CEF, CIP, CRO, CTX, CXM, FEP, LEV, SAM, SXT	10
AM, CAZ, CIP, CRO, CTX, CXM, FEP, GM, LEV, SAM, SXT	9
CAZ, CEF, CIP, CRO, CTX, CXM, FEP, GM, LEV, SAM	8
CAZ, CEF, CIP, CRO, CTX, CXM, FEP, GM, LEV, SAM, SXT	8
CAZ, CEF, CIP, CRO, CTX, CXM, FEP, LEV, SAM	7
AM, CAZ, CIP, CRO, CTX, CXM, FEP, GM, LEV, SAM	6
CAZ, CIP, CRO, CTX, CXM, FEP, LEV, SAM, SXT	6
CAZ, CIP, CRO, CTX, CXM, FEP, GM, LEV, SAM	4
AM, CAZ, CEF, CIP, CRO, CTX, CXM, FEP, GM, LEV, SAM, SXT	3
AM, CAZ, CEF, CIP, CRO, CTX, CXM, FEP, LEV, SAM, SXT	3
AM, CAZ, CIP, CRO, CTX, CXM, FEP, LEV, SAM, SXT	3
CAZ, CIP, CRO, CXM, FEP, GM, LEV, SAM, SXT, TZP	3
AM, CAZ, CIP, CRO, CTX, CXM, FEP, LEV, SAM	2
CIP, CRO, CTX, CXM, FEP, LEV, SAM, SXT	2
AM, AN, CAZ, CIP, CRO, CTX, CXM, FEP, GM, LEV, SAM	1
AM, CAZ, CEF, CIP, CRO, CTX, CXM, FEP, FOS, GM, LEV, SAM	1
AM, CAZ, CEF, CIP, CRO, CTX, CXM, FEP, GM, LEV, SAM	1
AM, CAZ, CEF, CIP, CRO, CTX, CXM, FEP, LEV, SAM	1

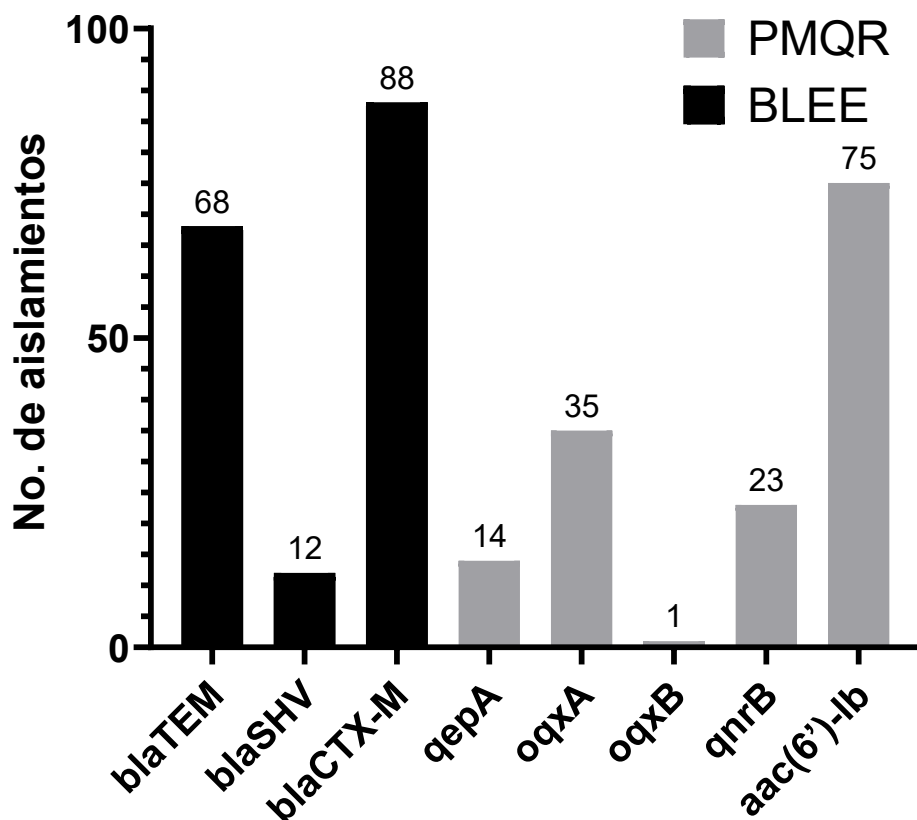
**Tabla 13.** Frecuencia de los resistotipos encontrados en los aislados de *E. coli* CA-UTI. n=89 (continuación)

<b>Resistotipo</b>	<b>No, de aislamientos</b>
AM, CAZ, CIP, CRO, CTX, CXM, FEP, FOS, GM, LEV, SAM, SXT	1
AM, CAZ, CIP, CRO, CTX, CXM, LEV, SAM, SXT	1
AM, CAZ, CIP, CRO, FEP, GM, LEV, SAM	1
AN, CAZ, CEF, CIP, CRO, CTX, CXM, FEP, FOS, GM, LEV, SAM, SXT	1
CAZ, CEF, CIP, CRO, CTX, CXM, FEP, FT, LEV, SAM, SXT	1
CAZ, CEF, CIP, CRO, CTX, CXM, FEP, SAM	1
CAZ, CEF, CIP, CRO, CXM, FEP, GM, LEV, SAM	1
CAZ, CIP, CRO, CTX, CXM, FEP, FOS, GM, LEV, SAM, SXT	1
CAZ, CIP, CRO, CTX, CXM, FEP, GM, LEV, SAM, SXT	1
CAZ, CIP, CRO, CTX, CXM, FEP, LEV, SAM	1
CAZ, CIP, CRO, CXM, FEP, GM, LEV, SAM, SXT	1

AM: ampicilina; AN: amikacina; CAZ: ceftazidima; CEF: cefalotina; CIP: ciprofloxacina; CRO; ceftriaxona; CTX: cefotaxima; CXM; cefuroxima; FEP: cefepime; FOS: fosfomicina; FT: nitrofurantoína; GM: gentamicina; LEV: levofloxacina; SAM: ampicilina/sulbactam; SXT: trimetoprima/sulfametoxazol; TZP: piperacilina/tazobactam.

## 8.2 Genes BLEE y PMQR

Todos los aislados dieron positivo para al menos uno de los tres tipos de BLEE analizados. El gen más frecuentemente detectado fue *bla<sub>CTX-M</sub>*, donde el 99% (88/89) de aislados resultaron positivos; seguido por *bla<sub>TEM</sub>* (76.4%) y, finalmente *bla<sub>SHV</sub>* (13.4%).



**Figura 8.** Frecuencia de las determinantes genéticas de resistencia entre las cepas aisladas. Genes BLEE (*bla<sub>TEM</sub>*, *bla<sub>SHV</sub>*, *bla<sub>CTX-M</sub>*) y genes PMQR (*oqxA*, *oqxB*, *qnrB*, *qepA*, *aac(6)-Ib*) n = 89.

Entre los grupos de CTX-M, el grupo 2 fue el de mayor frecuencia (97.8%), seguido por el grupo 1 (76.4%), el grupo 8 y el grupo 9 (ambos con 18.9%). Se observó la coexistencia de genes BLEE con y grupos CTX-M en varias cepas. La coexistencia de grupos CTX-M se observó en 86 de los aislados, como se muestra en la tabla 14.

En cuanto a los genes PMQR, la distribución fue la siguiente: *aac(6')-Ib* (83.0%), *oqxA* (40.6%), *qnrB* (29.2%), *qepA* (16.0) y *oqxB* (1.9%). Cabe destacar que cinco aislados resultaron negativos para los genes PMQR. Además se observó la coexistencia de genes PMQR en el 50% de los aislados positivos.

**Tabla 14.** *Distribución y coexistencia de grupos de CTX-M entre los aislamientos.*

n=88.

Grupo de CTX-M				No. de aislados
Grupo-1	Grupo-2	Grupo-8	Grupo-9	
+	+	-	-	66
-	+	+	-	3
-	+	+	+	15
+	+	-	+	2
-	+	-	-	1
-	-	-	+	1

+ : Positivo, - : Negativo

También se registró la coexistencia de genes BLEE y PMQR, lo que dio lugar a 30 combinaciones genotipos (Tabla 15) y 41 genotipos específicos (Tabla 16). No se encontró diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) en la prevalencia de estos genes entre los aislados según el sexo de los pacientes.

**Tabla 15.** Coexistencia de genes BLEE y PMQR en aislamientos de *E. coli* CA-UTI. n= 88.

No. de genes	Genes PMQR				Genes BLEE			No. de aislados
	<i>acc(6)-lb-cr</i>	<i>qnrB</i>	<i>oqxAB</i>	<i>qepA</i>	<i>TEM</i>	<i>SHV</i>	<i>CTX-M</i>	
<b>2 genes</b>	+	-	-	-	-	-	+	8
	-	-	-	-	+	-	+	3
	-	-	+	-	-	-	+	1
	-	+	-	-	-	-	+	1
<b>3 genes</b>	+	-	-	-	+	-	+	25
	+	-	+	-	-	-	+	2
	+	+	-	-	-	-	+	2
	-	+	-	+	-	-	+	1
	+	-	-	-	-	+	+	1
	-	-	+	-	+	-	+	2
<b>4 genes</b>	+	-	+	-	+	-	+	7
	+	+	-	-	+	-	+	3
	-	-	+	+	+	-	+	2
	+	-	-	-	+	+	+	4
	+	-	+	+	-	-	+	2
	+	+	+	-	-	-	+	1
	+	+	-	+	-	-	+	1
	+	+	+	-	-	-	+	1
	+	+	-	+	-	-	+	1
	-	-	+	+	+	-	+	1
	-	+	+	-	+	-	+	1
	+	-	-	+	+	-	+	1
	+	+	-	-	+	-	+	1
<b>5 genes</b>	+	+	+	-	+	-	+	4
	+	-	+	+	+	-	+	4
	+	-	+	-	+	+	+	1
	+	-	+	-	+	+	+	1
	+	+	-	-	+	+	+	1
<b>6 genes</b>	+	+	+	-	+	+	+	4
	+	+	+	+	+	-	+	1

+ : Positivo, - : Negativo

**Tabla 16.** Distribución de los genotipos encontrados en los aislamientos de *E. coli* CA-UTI. n= 89

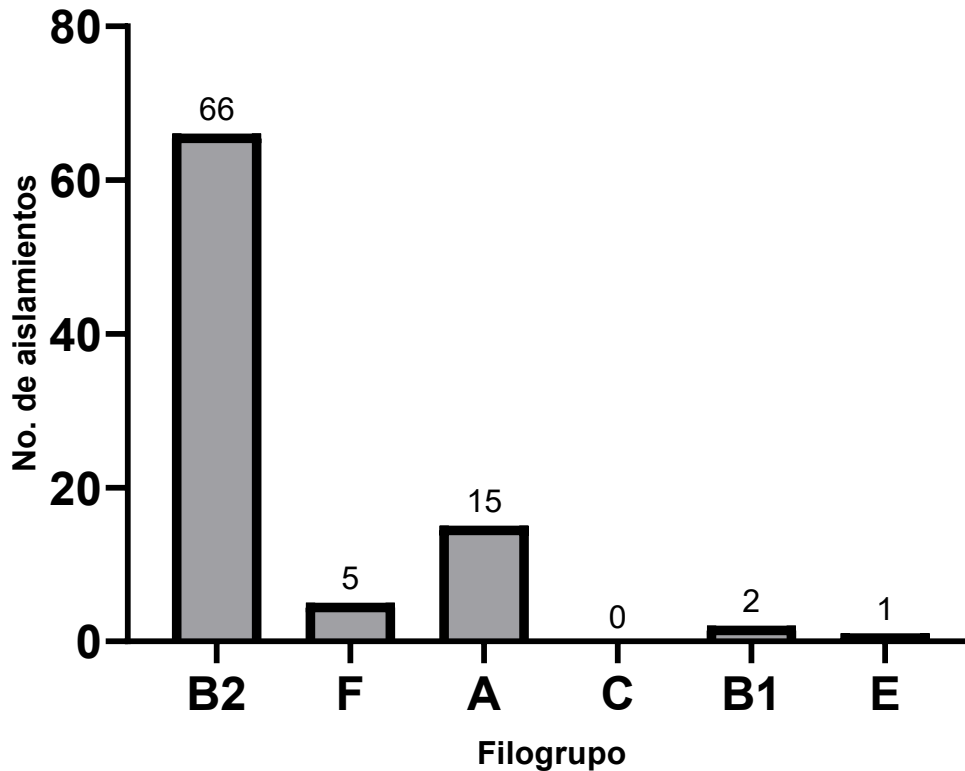
<b>Genotipo</b>	<b>No. de aislamientos</b>
<i>TEM, aac(6')-Ib, CTXM1, CTXM2</i>	22
<i>aac(6')-Ib, CTXM1, CTXM2</i>	6
<i>TEM, oqxA, aac(6')-Ib, CTXM1, CTXM2</i>	5
<i>TEM, oqxA, qepA, aac(6')-Ib, CTXM1, CTXM2</i>	4
<i>TEM, CTXM1, CTXM2</i>	3
<i>TEM, oqxA, qnrB, aac(6')-Ib, CTXM1, CTXM2</i>	3
<i>TEM, qnrB, aac(6')-Ib, CTXM1, CTXM2</i>	3
<i>TEM, SHV, oqxA, qnrB, aac(6')-Ib, CTXM1, CTXM2</i>	3
<i>aac(6')-Ib, CTXM8, CTXM9, CTXM2</i>	2
<i>oqxA, aac(6')-Ib, CTXM1, CTXM2</i>	2
<i>TEM, aac(6')-Ib, CTXM8, CTXM9, CTXM2</i>	2
<i>TEM, oqxA, aac(6')-Ib, CTXM8, CTXM9, CTXM2</i>	2
<i>TEM, oqxA, qepA, CTXM8, CTXM9, CTXM2</i>	2
<i>TEM, SHV, aac(6')-Ib, CTXM1, CTXM2</i>	2
<i>TEM, SHV, aac(6')-Ib, CTXM8, CTXM9, CTXM2</i>	2
<i>oqxA, CTXM1, CTXM2</i>	1
<i>oqxA, qepA, aac(6')-Ib, CTXM1, CTXM2</i>	1
<i>oqxA, qepA, aac(6')-Ib, CTXM9</i>	1
<i>oqxA, qnrB, aac(6')-Ib, CTXM1, CTXM2</i>	1
<i>oqxA, qnrB, qepA, aac(6')-Ib, CTXM1, CTXM2</i>	1
<i>qnrB, aac(6')-Ib, CTXM1, CTXM2</i>	1
<i>qnrB, aac(6')-Ib, CTXM8, CTXM2</i>	1
<i>qnrB, CTXM8, CTXM9, CTXM2</i>	1
<i>qnrB, qepA, aac(6')-Ib, CTXM1, CTXM2</i>	1
<i>qnrB, qepA, CTXM8, CTXM9, CTXM2</i>	1
<i>SHV, aac(6')-Ib, CTXM1, CTXM2</i>	1

**Tabla 16.** Distribución de los genotipos encontrados en los aislamientos de *E. coli* CA-UTI. n= 89 (continuación)

<b>Genotipo</b>	<b>No. de aislamientos</b>
<i>TEM</i>	1
<i>TEM, aac(6')-Ib, CTXM8, CTXM2</i>	1
<i>TEM, CTXM8, CTXM9, CTXM2</i>	1
<i>TEM, oqxA, CTXM1, CTXM2</i>	1
<i>TEM, oqxA, CTXM8, CTXM9, CTXM2</i>	1
<i>TEM, oqxA, oqxB, qnrB, qepA, aac(6')-Ib, CTXM1, CTXM2</i>	1
<i>TEM, oqxA, qepA, CTXM1, CTXM2</i>	1
<i>TEM, oqxA, qnrB, aac(6')-Ib, CTXM2</i>	1
<i>TEM, oqxA, qnrB, CTXM1, CTXM2</i>	1
<i>TEM, qepA, aac(6')-Ib, CTXM1, CTXM2</i>	1
<i>TEM, qnrB, aac(6')-Ib, CTXM8, CTXM2</i>	1
<i>TEM, SHV, oqxA, aac(6')-Ib, CTXM1, CTXM9, CTXM2</i>	1
<i>TEM, SHV, oqxA, qnrB, aac(6')-Ib, CTXM1, CTXM9, CTXM2</i>	1
<i>TEM, SHV, oqxA, qnrB, aac(6')-Ib, CTXM8, CTXM9, CTXM2</i>	1
<i>TEM, SHV, qnrB, aac(6')-Ib, CTXM1, CTXM2</i>	1

### 8.3 Filotipificación y diversidad genética

La filotipificación reveló que el 68.9% de los aislados pertenecen al grupo B2, el 16.9% al grupo A, el 5.6% al grupo F y el 3.7% al grupo B1 (66, 15, 5 y 2 aislados respectivamente). Solo uno (1.1%) de los aislados fue identificado como miembro del grupo E y no se registraron casos del grupo C.



**Figura 9.** *Distribución de grupos filogenéticos los aislamientos clínicos de E. coli CA-UTI. n= 89*

El análisis por ERIC-PCR reveló dos clados separados en su origen (Figura 10). El clado más prominente se subdividió en dos subclados principales, que contenían 88 de los 89 aislados. La cepa control ATCC 25922 se encontró dentro de estos subclados principales. Se observó diversidad genética entre los aislados a pesar de su origen compartido, filogrupo o genotipo.



**Figura 10.** *Dendrograma de los aislamientos de E. coli, de acuerdo a resultados de ERIC-PCR.* El análisis filogenético se realizó con el coeficiente DICE y el método UPGMA. La identificación del aislamiento se encuentra señalado al final de cada rama, seguido del tipo de muestra, perfil genético de resistencia (BLEE, *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub>, *bla*<sub>CTX-M</sub>; y PMQR, *oqx*A, *oqx*B, *qnr*B, *qep*A, *aac*(6')-Ib); y grupo filogenético. Los cuadros rellenos de color sólido indican que la cepa alberga al gen indicado, mientras que los cuadros sin relleno indican que la cepa dio negativo para la determinante genética indicada.

## 9. DISCUSIÓN

Las tasas crecientes de RAM entre *Enterobacteriaceae*, particularmente *E. coli*, han aumentado en la última década (Garza-González et al., 2021) y la pandemia de COVID-19 pudo haber acelerado este proceso (López-Jácome et al., 2022). Esto representa un desafío significativo para la salud pública y la práctica clínica. Los aislados de este estudio mostraron alta resistencia a antibióticos comúnmente prescritos, incluidos, ampicilina, ceftazidima, ceftriaxona y ciprofloxacina, con tasas más altas en comparación con los informes locales previos a la pandemia (Martínez Miranda et al., 2018). Estos hallazgos resaltan la necesidad de considerar nuevas opciones terapéuticas para estos microorganismos y resaltan la importancia de la administración responsable de antimicrobianos para reducir la propagación de la resistencia.

La presencia de cepas de *E. coli* productoras de BLEE, complica el tratamiento ya que los  $\beta$ -lactámicos y las quinolonas son clave en la terapia empírica para las CA-UTI, según las guías de la IDSA (Tamma et al., 2024) y las guías Mexicanas (CENETEC, 2021b, 2024; Secretaría de Salud, 2014). Los hallazgos del presente estudio indican que las cepas analizadas contienen determinantes genéticos de resistencia tanto para los  $\beta$ -lactámicos como para las quinolonas, limitando las opciones de tratamiento. Específicamente, se encontró que CTX-M es el tipo de  $\beta$ -lactamasa más frecuente, lo que concuerda con las tendencias globales, donde variantes de CTX-M pueden eclipsar a otras  $\beta$ -lactamasas como TEM y SHV. De forma interesante, aunque la variante ampliamente distribuida CTX-M15 estaba ausente en los aislamientos, CTX-M2 fue la más frecuentemente detectada, lo que se alinea con otros estudios de la región noroeste de México (Ballesteros-Monreal et al., 2024; Méndez-Moreno et al., 2022) y contrasta con informes previos de otras áreas de México (Cortés-Cortés et al., 2017). Es importante destacar que el 96.6% (86/89) de las cepas contenían genes de tipo CTX-M de dos o más grupos diferentes, un fenómeno con pocos informes previos (Garza-González et al., 2021; Méndez-Moreno et al., 2022). La presencia de genes CTX-M (98.9%) probablemente explica la resistencia observada a las cefalosporinas, dado que estas  $\beta$ -lactamasas pueden

hidrolizar cefotaxima, ceftriaxona y ceftazidima (Bush & Bradford, 2020). Aunque la coexistencia de CTX-M con otros genes BLEE en una cepa es un fenómeno frecuente (Garza-González et al., 2021), sigue siendo un evento notable.

La prevalencia de cepas productoras de BLEE puede variar entre los entornos comunitarios y los de atención médica. Los estudios muestran que las tasas de BLEE tienden a ser más altas en los entornos de atención médica (Bezabih et al., 2022). En México, varios estudios se han centrado en los entornos de atención médica en diferentes regiones (Gallegos-Miranda et al., 2021; Miranda-Romero et al., 2017; Silva-Sánchez et al., 2013; Silva-Sanchez, Garza-Ramos, et al., 2011). En contraste, existen menos informes que aborden tanto los entornos comunitarios como los de atención médica (Garza-González et al., 2021; Miranda-Romero et al., 2017), así como son aún menos los estudios enfocados en entornos comunitarios (Méndez-Moreno et al., 2022). Se necesita más investigación para comparar las tasas de prevalencia entre los entornos de atención médica y comunitarios en la región de Baja California, con el fin de entender mejor las dinámicas de la resistencia antimicrobiana en ambos contextos y mejorar el manejo de infecciones.

En cuanto a los genes PMQR, los genes *oqxAB* (una bomba de eflujo para diferentes fármacos), *qepA* (bomba de eflujo) *qnrB* (que codifica una proteína que protege la topoisomerasa II), y *aac(6')-Ib* (acetiltransferasa codificada) (Rodríguez-Martínez et al., 2011) pueden conferir baja resistencia a las quinolonas cuando están presentes en una cepa. El PMQR prevalente en este estudio, fue *aac(6')-Ib*, lo cual es consistente con informes previos (Reyna-Flores et al., 2013; Silva-Sánchez et al., 2013), y estuvo presente en más del 90% de los aislados provenientes de instituciones de atención médica (Gallegos-Miranda et al., 2021) así como en entornos comunitarios (Miranda-Romero et al., 2017). Los aislados analizados en este estudio provienen de un entorno comunitario, un área donde la resistencia podría estar subestimada.

El gen *aac(6')-Ib* está asociado con resistencia a las quinolonas y puede aumentar la CMI para ciprofloxacina (Rodríguez-Martínez et al., 2011). Interesantemente, aunque este gen codifica para una AME, observamos un patrón de susceptibilidad

diferente para amikacina y gentamicina, ambas pertenecientes a la clase de los aminoglucósidos. Amikacina mostró mayor susceptibilidad que gentamicina, lo que puede deberse a que la gentamicina es más fácilmente modificada por la enzima acetiltransferasa debido a diferencias estructurales.

Los genes PMQR también pueden coexistir en los aislados como se ha informado previamente en México (Gallegos-Miranda et al., 2021; Miranda-Romero et al., 2017; Reyna-Flores et al., 2013; Silva-Sanchez, Barrios, et al., 2011). La coexistencia de genes PMQR podría potenciar la resistencia a las quinolonas al albergar diferentes mecanismos de resistencia contra estos antimicrobianos.

Cabe destacar que cinco cepas resultaron negativas para todos los genes PMQR analizados en este estudio. Aunque empleamos cebadores específicos para la variante *qnrB* (Qin et al., 2017) identificada como el alelo prevalente en investigaciones previas, también se han reportado otros alelos de *qnr* en México (Silva-Sánchez et al., 2013). Además, la resistencia de dichos aislamientos podría ser mediada por mecanismos no cubiertos en este estudio, como mutaciones en la región determinante de resistencia a quinolonas de los genes de la topoisomerasa tipo II (Silva-Sánchez et al., 2013) u otros determinantes genéticos no evaluados aquí. Se requiere de un análisis adicional, incluyendo la secuenciación de los genes *gyrA* y *parC*, para dilucidar el mecanismo específico de resistencia a quinolonas en estas cepas. Dado que los genes PMQR se encuentran comúnmente en aislados clínicos junto con estas mutaciones (Silva-Sánchez et al., 2013), se requieren más investigaciones para poder confirmar esta asociación en los aislados estudiados.

La coexistencia de genes BLEE y PMQR en *E. coli* ha sido reportada previamente (Miranda-Romero et al., 2017; Whelan et al., 2023). En este estudio, el 82.07% de las cepas portaban *aac(6')-Ib* y *bla<sub>CTX-M</sub>*, una combinación frecuentemente encontrada en plásmidos (Whelan et al., 2023), y en cepas que colonizan individuos sanos (Cortés-Cortés et al., 2017). Esto sugiere la posibilidad de transferencia horizontal de genes hacia cepas comensales, lo que podría dar lugar a cepas MDR de difícil tratamiento empírico, disminuyendo las opciones terapéuticas para infecciones causadas por este patógeno.

La prevalencia de los grupos filogenéticos puede variar significativamente según la región. En este estudio, la mayoría de los aislados (74.2%) pertenecieron al grupo B2, que se ha asociado con infecciones extraintestinales y resistencia antimicrobiana a  $\beta$ -lactámicos y quinolonas (Denamur et al., 2021; Halaji et al., 2022). Este hallazgo es consistente con los informes de México, donde el grupo B2 es predominante entre los aislados de ITU (Ballesteros-Monrreal et al., 2023; Cortés-Cortés et al., 2017; Méndez-Moreno et al., 2022). El grupo B2 se ha asociado con aislamientos altamente virulentos, debido a la presencia de múltiples factores de virulencia (Chong et al., 2018). Además se ha encontrado predominantemente en cepas de origen intrahospitalario (Dioli et al., 2023). Los aislamientos del presente estudio, fueron colectados de la comunidad, donde la presencia y diseminación de cepas virulentas representa un problema de salud pública, ya que se ha asociado al clon pandémico ST131 que posee CTX-M y otras determinantes genéticas de resistencia (Coque et al., 2008; Hassuna et al., 2020). En contraste, el grupo A generalmente se asocia con cepas comensales intestinales (Méndez-Moreno et al., 2022). Los resultados de este estudio muestran que el grupo A fue el segundo grupo filogenético más frecuente (15/89), consistente con informes previos en México, donde también se recuperó con frecuencia de pacientes con ITU (Ballesteros-Monrreal et al., 2023), y de cepas de *E. coli* intestinales de personas sanas del norte de México (Méndez-Moreno et al., 2022). La presencia de cepas intestinales en las ITU podría sugerir el riesgo de infección por cepas comensales.

El análisis de las cepas de este estudio reveló que el 66.3% (59/89) de los aislados provino de pacientes femeninas, lo que refleja la mayor prevalencia de las ITU entre mujeres debido a factores anatómicos y fisiológicos (Ballesteros-Monrreal et al., 2023). Además, el 65.1% de los aislados provino de pacientes mayores de 55 años, lo que sugiere que la edad avanzada podría ser un factor de riesgo potencial para CA-UTI, independientemente del sexo. También se observó un notable grado de resistencia antimicrobiana entre los aislados urinarios. Específicamente, se encontró resistencia a trimetoprima/sulfametoxazol en el 60.7% de los aislados, a pesar de su uso común en el tratamiento de las ITU (Tamma et al., 2024). En contraste, las tasas relativamente bajas de resistencia observadas para fosfomicina

y nitrofurantoína (4.54% y 1.12%, respectivamente) sugieren que estos agentes podrían ser alternativas viables para tratar ITU, aunque su uso está limitado para ITU no complicadas. Dado que los agentes de primera línea recomendados por las GPC (CENETEC, 2024; Secretaría de Salud, 2014) pueden ya no ser efectivos en la mayoría de los casos, deben considerarse opciones terapéuticas alternativas para las ITU complicadas.

Se identificaron varios perfiles de resistencia antimicrobiana entre los aislados. La resistencia compartida a las penicilinas combinadas con inhibidores de  $\beta$ -lactamasa, cefalosporinas y quinolonas, sugiere la presencia de múltiples mecanismos de resistencia en diversas clases antimicrobianas. Todas las cepas fueron susceptibles a los carbapenémicos evaluados (doripenem, ertapenem, imipenem y meropenem) y a ceftazidima/avibactam. Estos antimicrobianos podrían considerarse como alternativas para las ITU complicadas dado que las tasas de resistencia observadas en este estudio fueron bajas. Sin embargo, su uso debe ser cercanamente monitoreado para prevenir la aparición de cepas resistentes a estos fármacos.

Para combatir eficazmente la RAM, es esencial una vigilancia continua de la resistencia a los fármacos y los genotipos asociados (Garza-González et al., 2021). Se han empleado varias técnicas de tipificación molecular, como MLST, PFGE y la ribotipificación en estudios de vigilancia epidemiológica. En México, PFGE ha sido el método predominante utilizado en informes previos (Cortés-Cortés et al., 2017; Miranda-Romero et al., 2017; Reyna-Flores et al., 2013; Silva-Sánchez et al., 2013), sin embargo, ERIC-PCR también ofrece una opción más rentable y con un fuerte poder discriminatorio para evaluar la relación clonal. ERIC-PCR también ha sido utilizado en informes recientes en México (Ballesteros-Monrreal et al., 2024). Los resultados de este estudio revelaron una distancia genética sustancial entre las cepas, incluso dentro de muestras recolectadas en la misma comunidad. La distancia evolutiva aumentó conforme las ramas divergían de su origen común, lo que sugiere que incluso las cepas que comparten un resistotipo pueden exhibir una divergencia genética significativa. Este hallazgo podría resultar de la amplificación de fragmentos intergénicos por ERIC-PCR, en lugar de genes de resistencia que

podrían haber sido adquiridos a través de MGE. La diversidad observada podría ser atribuida a los diversos orígenes de los pacientes. Mexicali es una ciudad ubicada en la frontera México-Estados Unidos, que es una región popular para el turismo médico, lo que atrae a una población diversa de pacientes. Esta diversidad podría contribuir a la variación en los aislados comunitarios y facilitar la propagación de cepas hacia otras regiones. Entender estas dinámicas podría ayudar en la formulación de políticas de salud pública destinadas al control de infecciones resistentes a antimicrobianos.

Es necesario considerar algunas limitaciones de estudio al interpretar los resultados. Los aislamientos se originaron en un único laboratorio y la muestra fue pequeña (n= 89), lo que evidentemente limita la representatividad poblacional y, por lo tanto, no permite extrapolar los resultados a toda la comunidad de Mexicali.

Asimismo, debido a que el muestreo empleado fue por conveniencia, se imposibilita la realización de inferencias estadísticas acerca de la prevalencia real de PMQR y BLEE en Mexicali. Además, el hecho de que no exista información clínica detallada sobre los pacientes y que no se comparó con aislamientos de origen hospitalario, limita la capacidad para identificar los factores de riesgo y comprender como se transmite este patógeno.

Por lo tanto, aunque los hallazgos son muy importantes debido a que señalan un problema significativo de resistencia antimicrobiana en las muestras analizadas, para respaldar modificaciones significativas en las GPC locales es necesario realizar estudios multicéntricos, con muestras más grandes y con bases probabilísticas.

## 10. CONCLUSIONES

Este estudio proporciona valiosa información regional sobre el desafío que representa *E. coli* en las infecciones adquiridas en la comunidad, especialmente en lo que respecta a la RAM. A nuestro conocimiento, este es el primer estudio que caracteriza la resistencia genética de *E. coli* en el entorno comunitario de Mexicali. La alta prevalencia de genes BLEE y PMQR, asociados con MDR, limita las opciones terapéuticas disponibles, lo que complica el manejo efectivo de estas infecciones. La diversidad de los aislamientos resistentes sugiere múltiples fuentes de estas cepas dentro de la comunidad, lo que resalta la necesidad de reforzar la vigilancia de la RAM a nivel comunitario.

El hallazgo de estas altas tasas de resistencia, especialmente frente a antibióticos de uso común, resalta la urgencia de explorar clases antimicrobianas alternativas. Además, se recomienda una reevaluación de las estrategias de tratamiento empírico para las CA-UTI, considerando la creciente prevalencia de cepas resistentes. La identificación y comprensión de estos patrones locales de resistencia no solo permitiría ajustar las opciones terapéuticas de manera más efectiva, sino que también contribuiría a mejorar estrategias de control y prevención de infecciones en la comunidad.

La existencia de cepas MDR en el entorno comunitario plantea retos adicionales para la salud pública, ya que su propagación puede ser rápida y difícil de contener. Por lo tanto, la implementación de programas de vigilancia antimicrobiana más robustos, junto con campañas de concientización sobre el uso adecuado de antibióticos, se presenta como una necesidad para mitigar el impacto de la RAM en la salud pública. Además, es necesario que futuros estudios sigan monitoreando de manera continua las tendencias de resistencia, ya que estos datos son esenciales para guiar las decisiones terapéuticas y políticas de salud pública a nivel regional y global.

## 11. REFERENCIAS

- Ambler, R. P. (1980). The structure of  $\beta$ -lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, 289(1036), 321–331.  
<https://doi.org/10.1098/RSTB.1980.0049>
- Arlet, G., & Philippon, A. (1991). Construction by polymerase chain reaction and intragenic DNA probes for three main types of transferable  $\beta$ -lactamases (TEM, SHV, CARB). *FEMS Microbiology Letters*, 82(1), 19–25.  
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1991.tb04833.x>
- Ballesteros-Monrreal, M. G., Mendez-Pfeiffer, P., Barrios-Villa, E., Arenas-Hernández, M. M. P., Enciso-Martínez, Y., Sepúlveda-Moreno, C. O., Bolado-Martínez, E., & Valencia, D. (2023). Uropathogenic *Escherichia coli* in Mexico, an Overview of Virulence and Resistance Determinants: Systematic Review and Meta-analysis. *Archives of Medical Research*, 54(3), 247–260.  
<https://doi.org/10.1016/J.ARCMED.2023.01.001>
- Ballesteros-Monrreal, M. G., Mendez-Pfeiffer, P., Ortíz, B., Bolado-Martínez, E., Álvarez-Ainza, M. L., Enciso-Martínez, Y., Arenas-Hernández, M. M. P., Diaz-Murrieta, B., Barrios-Villa, E., & Valencia, D. (2024). Uropathogenic *E. coli* and Hybrid Pathotypes in Mexican Women with Urinary Tract Infections: A Comprehensive Molecular and Phenotypic Overview. *Current Issues in Molecular Biology*, 46, 5909–5928. <https://doi.org/10.3390/cimb46060353>
- Barrios-Villa, E., Picón, L. R., Reynaga, R. B., & de la Paz Arenas-Hernández, M. M. (2023). An updated overview on the resistance and virulence of UPEC. In *Trending Topics in Escherichia coli Research: The Latin American Perspective* (pp. 249–276). [https://doi.org/10.1007/978-3-031-29882-0\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-031-29882-0_11)
- Barrios, H., Garza-Ramos, U., Mejía-Miranda, I., Reyna-Flores, F., Sánchez-Pérez, A., Mosqueda-García, D., & Silva-Sanchez, J. (2017). ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: The most prevalent clinical isolates obtained between 2005 and 2012 in Mexico. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 10, 243–246.

<https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.06.008>

Bezabih, Y. M., Bezabih, A., Dion, M., Batard, E., Teka, S., Obole, A., Dessalegn, N., Enyew, A., Roujeinikova, A., Alamneh, E., Mirkazemi, C., Peterson, G. M., & Bezabhe, W. M. (2022). Comparison of the global prevalence and trend of human intestinal carriage of ESBL-producing *Escherichia coli* between healthcare and community settings: a systematic review and meta-analysis. *JAC-Antimicrobial Resistance*, 4(3). <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlac048>

Bezabih, Y. M., Sabiiti, W., Alamneh, E., Bezabih, A., Peterson, G. M., Bezabhe, W. M., & Roujeinikova, A. (2021). The global prevalence and trend of human intestinal carriage of ESBL-producing *Escherichia coli* in the community. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 76(1), 22–29. <https://doi.org/10.1093/JAC/DKAA399>

Blair, J. M. A., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. V. (2014). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology* 2014 13:1, 13(1), 42–51. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3380>

Briñas, L., Lantero, M., de Diego, I., Alvarez, M., Zarazaga, M., & Torres, C. (2005). Mechanisms of resistance to expanded-spectrum cephalosporins in *Escherichia coli* isolates recovered in a Spanish hospital. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56(6), 1107–1110. <https://doi.org/10.1093/jac/dki370>

Brolund, A., & Sandegren, L. (2015). Characterization of ESBL disseminating plasmids. <https://doi.org/10.3109/23744235.2015.1062536>, 48(1), 18–25. <https://doi.org/10.3109/23744235.2015.1062536>

Bush, K. (2018). Past and present perspectives on  $\beta$ -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62(10). <https://doi.org/10.1128/AAC.01076-18/ASSET/C7F83EDE-7270-4C1C-A7C3-A9DD5566FFD1/ASSETS/GRAPHIC/ZAC0101875200003.JPEG>

Bush, K., & Bradford, P. A. (2020). Epidemiology of  $\beta$ -lactamase-producing pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(2).

<https://doi.org/10.1128/cmr.00047-19>

- Bush, K., & Jacoby, G. A. (2010). Updated functional classification of  $\beta$ -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(3), 969–976.  
<https://doi.org/10.1128/AAC.01009-09/ASSET/7642BBDF-C04B-44A4-9311-77D570253BF5/ASSETS/GRAPHIC/ZAC9991087260003.JPEG>
- Carattoli, A. (2013). Plasmids and the spread of resistance. *International Journal of Medical Microbiology*, 303(6–7), 298–304.  
<https://doi.org/10.1016/J.IJMM.2013.02.001>
- Carattoli, A., Zankari, E., García-Fernández, A., Voldby Larsen, M., Lund, O., Villa, L., Møller Aarestrup, F., & Hasman, H. (2014). In Silico Detection and Typing of Plasmids using PlasmidFinder and Plasmid Multilocus Sequence Typing. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(7), 3895–3903.  
<https://doi.org/10.1128/AAC.02412-14>
- Casañ-Lopez, C. (2021). *Caracterización y tipificación molecular de Cepas de Escherichia coli y Klebsiella pneumoniae productoras de betalatasas de espectro extendido (BLEE) aisladas en la comunidad Valenciana*. Universidad de Valencia.
- Castro-Alarcón, N., Salgado-Gonzales, J. F., Ocampo Sarabia, R. L., Silva-Sánchez, J., & Ruiz-Rosas, M. (2014). Caracterización de  $\beta$  - lactamasas de espectro extendido producidas por Escherichia coli de infecciones del tracto urinario adquiridas en la comunidad de Chilpancingo , Guerrero , México. *Tlamati*, 5(1), 14–23.
- CENETEC. (2021a). *Diagnóstico y tratamiento de la infección de vías urinarias no complicada en menores de 18 años en el primer y segundo niveles de atención*.
- CENETEC. (2021b). *Prevención , abordaje y manejo de bacteriuria asintomática e infección de vías urinarias durante el embarazo*.
- CENETEC. (2024). *Diagnóstico y tratamiento de la Infección aguda , no*

complicada del tracto urinario en mujeres de 18 a 59 años de edad en el primer nivel de atención. *Guía de Práctica Clínica: Evidencias y Recomendaciones*. <http://www.cenetec-difusion.com/CMGPC/GPC-SS-077-24/ER.pdf>

Chong, Y., Shimoda, S., & Shimono, N. (2018). Current epidemiology, genetic evolution and clinical impact of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Infection, Genetics and Evolution*, *61*, 185–188. <https://doi.org/10.1016/J.MEEGID.2018.04.005>

Clermont, O., Christenson, J. K., Denamur, E., & Gordon, D. M. (2013). The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. *Environmental Microbiology Reports*, *5*(1), 58–65. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12019>

*Coordenadas geográficas de Mexicali - Latitud y longitud*. (2020). <https://www.geodatos.net/coordenadas/mexico/mexicali>

Coque, T. M., Baquero, F., & Canton, R. (2008). Increasing prevalence of ESBL-producing enterobacteriaceae in Europe. *Eurosurveillance*, *13*(47), 19044. <https://doi.org/10.2807/ESE.13.47.19044-EN/CITE/PLAINTEXT>

Cortés-Cortés, G., Lozano-Zarain, P., Torres, C., Alonso, C. A., Ríos-Torres, A. M., Castañeda, M., López-Pliego, L., Navarro, A., & del Carmen Rocha-Gracia, R. (2017). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from healthy humans in Mexico, including subclone ST131-B2-O25:H4-H30-Rx. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, *9*, 130–134. <https://doi.org/10.1016/J.JGAR.2017.02.014>

Dauvillée, D., Kinderf, I. S., Li, Z., Kosar-Hashemi, B., Samuel, M. S., Rampling, L., Ball, S., & Morell, M. K. (2005). Role of the *Escherichia coli* glgX Gene in Glycogen Metabolism. *Journal of Bacteriology*, *187*(4), 1465. <https://doi.org/10.1128/JB.187.4.1465-1473.2005>

Delcour, A. H. (2009). Outer membrane permeability and antibiotic resistance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, *1794*(5),

808–816. <https://doi.org/10.1016/J.BBAPAP.2008.11.005>

Denamur, E., Clermont, O., Bonacorsi, S., & Gordon, D. (2021). The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews. Microbiology*, *19*(1), 37–54. <https://doi.org/10.1038/S41579-020-0416-X>

Denisuik, A. J., Karlowsky, J. A., Adam, H. J., Baxter, M. R., Lagacé-Wiens, P. R. S., Mulvey, M. R., Hoban, D. J., Zhanel, G. G., CANWARD, C. A. R. A. (CARA) and, Zhanel, G. G., Hoban, D. J., Adam, H. J., Baxter, M. R., Nichol, K. A., Lagacé-Wiens, P. R. S., Walkty, A., Karlowsky, J. A., Blondeau, J., Slinger, R., ... Pelletier, R. (2019). Dramatic rise in the proportion of ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* among clinical isolates identified in Canadian hospital laboratories from 2007 to 2016. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *74*(Supplement\_4), iv64–iv71. <https://doi.org/10.1093/JAC/DKZ289>

Dioli, C., Pappa, O., Siatravani, E., Bratakou, S., Tatsiopoulos, A., Giakkoupi, P., Miriagou, V., & Beloukas, A. (2023). Molecular Characterization and Prevalence of Antimicrobial-Resistant *Escherichia coli* Isolates Derived from Clinical Specimens and Environmental Habitats. *Microorganisms*, *11*(6). <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061399>

Duran-Bedolla, J., Téllez-Sosa, J., González-Villoria, A. M., & Barrios-Camacho, H. (2024). Detection of O25b-ST131 clone in extended spectrum beta-lactamase-producing *E. coli* from urinary tract infections in Mexico. *The Journal of Infection in Developing Countries*, *18*(12), 1861–1866. <https://doi.org/10.3855/jidc.18854>

El-Badawy, M. F., Tawakol, W. M., El-Far, S. W., Maghrabi, I. A., Al-Ghamdi, S. A., Mansy, M. S., Ashour, M. S., & Shohayeb, M. M. (2017). Molecular Identification of Aminoglycoside-Modifying Enzymes and Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Genes among *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolates Recovered from Egyptian Patients. *International Journal of Microbiology*, *2017*, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2017/8050432>

- Enright, M. C., & Spratt, B. G. (1999). *Multilocus sequence typing*. 99, 482–487.
- Galindo-Méndez, M., Navarrete-Salazar, H., Baltazar-Jiménez, F., Muñoz-de la Paz, E., Sánchez-Mawcinitt, M. F., Gómez-Pardo, A., Garza-González, E., Ponce-de-León-Garduño, L. A., Franco-Cendejas, R., Morfín-Otero, R., Rojas-Larios, F., Mena-Ramírez, J. P., Morales-de-la-Peña, C. T., García-Mendoza, L., Choy-Chang, E. V., Avilés-Benítez, L. K., López-Gutiérrez, E., Canizales-Oviedo, J. L., Barlandas-Rendón, N. E., ... Ostos-Cantú, H. L. (2022). Emergence of Fosfomycin Resistance by Plasmid-Mediated fos Genes in Uropathogenic ESBL-Producing E. coli Isolates in Mexico. *Antibiotics* 2022, Vol. 11, Page 1383, 11(10), 1383.  
<https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS11101383>
- Gallegos-Miranda, V., Garza-Ramos, U., Bolado-Martínez, E., Navarro-Navarro, M., Félix-Murray, K. R., Candia-Plata, M. del C., Sanchez-Martinez, G., Dúran-Bedolla, J., & Silva-Sánchez, J. (2021). ESBL-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae from health-care institutions in Mexico. *Journal of Chemotherapy (Florence, Italy)*, 33(2), 122–127.  
<https://doi.org/10.1080/1120009X.2020.1861815>
- Garza-González, E., Morfín-Otero, R. I., Mendoza-Olazará, S., Bocanegra-Ibarias, P., Flores-Treviño, S., Rodríguez-Noriega, E., Ponce-de-León, A., Sanchez-Francia, D., Franco-Cendejas, R., Arroyo-Escalante, S., Velázquez-Acosta, C., Rojas-Larios, F., Quintanilla, L. J., Maldonado-Anicacio, J. Y., Martínez-Miranda, R. I., Ostos-Cantú, H. L., Gomez-Choel, A., Jaime-Sanchez, J. L., Avilés-Benítez, L. K., ... Camacho-Ortiz, A. (2019). A snapshot of antimicrobial resistance in Mexico. Results from 47 centers from 20 states during a six-month period. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209865>
- Garza-González, E., Bocanegra-Ibarias, P., Bobadilla-Del-Valle, M., Alfredo Ponce-De-León-Garduño, L., Esteban-Kenel, V., Silva-Sánchez, J., Garza-Ramos, U., Barrios-Camacho, H., López-Jácome, L. E., Colin-Castro, C. A., Franco-Cendejas, R., Flores-Treviño, S., Morfín-Otero, R., Rojas-Larios, F., Mena-Ramírez, J. P., Fong-Camargo, M. G., Morales-De-la-Peña, C. T.,

- García-Mendoza, L., Choy-Chang, E. V., ... Camacho-Ortiz, A. (2021). Drug resistance phenotypes and genotypes in Mexico in representative gram-negative species: Results from the infivar network. *PLOS ONE*, *16*(3), e0248614. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248614>
- Garza-González, E., Franco-Cendejas, R., Morfín-Otero, R., Echaniz-Aviles, G., Rojas-Larios, F., Bocanegra-Ibarias, P., Flores-Treviño, S., Ponce-De-León, A., Rodríguez-Noriega, E., Alavez-Ramírez, N., Mena-Ramirez, J. P., Rincón-Zuno, J., Fong-Camargo, M. G., Morales-De-La-Peña, C. T., Huerta-Baltazar, C. R., López-Jacome, L. E., Carnalla-Barajas, M. N., Soto-Noguerón, A., Sanchez-Francia, D., ... Camacho-Ortiz, A. (2020). The Evolution of Antimicrobial Resistance in Mexico During the Last Decade: Results from the INVIFAR Group. *Microbial Drug Resistance*, *26*(11), 1372–1382. <https://doi.org/10.1089/MDR.2019.0354>
- Garza-González, E., Mendoza Ibarra, S. I., Llaca-Díaz, J. M., & Gonzalez, G. (2011). Molecular characterization and antimicrobial susceptibility of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae isolates at a tertiary-care centre in Monterrey, Mexico. *Journal of Medical Microbiology*, *60*, 84–90. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.022970-0>
- Gharavi, M. J., Zarei, J., Roshani-Asl, P., Yazdanyar, Z., Sharif, M., & Rashidi, N. (2021). Comprehensive study of antimicrobial susceptibility pattern and extended spectrum beta-lactamase (ESBL) prevalence in bacteria isolated from urine samples. *Scientific Reports 2021 11:1*, *11*(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79791-0>
- Giono-Cerezo, S., Santos-Preciado, J. I., Rayo Morfín-Otero, M. del, Torres-López, F. J., Alcántar-Curiel, M. D., Giono-Cerezo, S., Santos-Preciado, J. I., Rayo Morfín-Otero, M. del, Torres-López, F. J., & Alcántar-Curiel, M. D. (2020). Resistencia antimicrobiana. Importancia y esfuerzos por contenerla. *Gaceta Médica de México*, *156*(2), 172–180. <https://doi.org/10.24875/GMM.20005624>
- Gobierno de México. (2020). *Mexicali: Economía, empleo, equidad, calidad de*

- González-Villalobos, E., Ribas-Aparicio, R. M., Belmont-Monroy, L., Aparicio-Ozores, G., Manjarrez-Hernández, H. Á., Gavilanes-Parra, S., Balcázar, J. L., & Molina-López, J. (2022). Identification and characterization of class 1 integrons among multidrug-resistant uropathogenic *Escherichia coli* strains in Mexico. *Microbial Pathogenesis*, *162*, 105348. <https://doi.org/10.1016/J.MICPATH.2021.105348>
- Hagel, S., Makarewicz, O., Hartung, A., Weiß, D., Stein, C., Brandt, C., Schumacher, U., Ehricht, R., Patchev, V., & Pletz, M. W. (2019). ESBL colonization and acquisition in a hospital population: The molecular epidemiology and transmission of resistance genes. *PLOS ONE*, *14*(1), e0208505. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0208505>
- Halaji, M., Fayyazi, A., Rajabnia, M., Zare, D., Pournajaf, A., & Ranjbar, R. (2022). Phylogenetic Group Distribution of Uropathogenic *Escherichia coli* and Related Antimicrobial Resistance Pattern: A Meta-Analysis and Systematic Review. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *12*, 790184. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.790184>
- Hall, B. G., & Barlow, M. (2005). Revised Ambler classification of  $\beta$ -lactamases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *55*(6), 1050–1051. <https://doi.org/10.1093/jac/dki130>
- Hassuna, N. A., Khairalla, A. S., Farahat, E. M., Hammad, A. M., & Abdel-Fattah, M. (2020). Molecular characterization of Extended-spectrum  $\beta$  lactamase-producing *E. coli* recovered from community-acquired urinary tract infections in Upper Egypt. *Scientific Reports*, *10*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59772-z>
- Hawkey, P. M. (2008). Molecular epidemiology of clinically significant antibiotic resistance genes. *British Journal of Pharmacology*, *153*(S1), S406–S413. <https://doi.org/10.1038/SJ.BJP.0707632>

- Heras, J., Domínguez, C., Mata, E., Pascual, V., Lozano, C., Torres, C., & Zarazaga, M. (2015). GelJ - a tool for analyzing DNA fingerprint gel images. *BMC Bioinformatics*, *16*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/S12859-015-0703-0>
- Hooper, D. C., & Jacoby, G. A. (2015). Mechanisms of drug resistance: quinolone resistance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1354*(1), 12–31. <https://doi.org/10.1111/NYAS.12830>
- Jacoby, G. A. (2009). AmpC beta-lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, *22*(1), 161–182. <https://doi.org/10.1128/CMR.00036-08>
- Jaimes-Vélez, A., Solís-Ayala, E., Jaimes-Vélez, A., & Solís-Ayala, E. (2017). Administración previa de antibiótico como factor asociado con infección urinaria por *E. coli* productora de BLEE de origen comunitario en pacientes diabéticos. *Medicina Interna de México*, *33*(5), 605–611. <https://doi.org/10.24245/MIM.V33I5.1556>
- Jia, P., Zhu, Y., Li, X., Kudinha, T., Yang, Y., Zhang, G., Zhang, J., Xu, Y., & Yang, Q. (2021). High Prevalence of Beta-Lactamases in *Escherichia coli* Strains Collected From Strictly Defined Community-Acquired Urinary Tract Infections in Adults in China : A Multicenter Prospective Clinical Microbiological and Molecular Study. *Frontiers in Microbiology*, *12*(July), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.663033>
- Jorgensen, J. H., & Pfaller, M. A. (Eds.). (2015). *Manual of Clinical Microbiology* (11th ed.). ASM Press. <https://doi.org/10.1128/9781555817381> Printed
- Kotra, L. P., & Mobashery, S. (1998).  $\beta$ -Lactam antibiotics,  $\beta$ -lactamases and bacterial resistance. *Bulletin de l'Institut Pasteur*, *96*(3), 139–150. [https://doi.org/10.1016/S0020-2452\(98\)80009-2](https://doi.org/10.1016/S0020-2452(98)80009-2)
- Kubone, P. Z., Mlisana, K. P., Govinden, U., Abia, A. L. K., & Essack, S. Y. (2020). Antibiotic Susceptibility and Molecular Characterization of Uropathogenic *Escherichia coli* Associated with Community-Acquired Urinary Tract Infections in Urban and Rural Settings in South Africa. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, *5*(4), 1–13. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed5040176>

- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, *35*(6), 1547–1549.  
<https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Larramendy, S., Deglaire, V., Dusollier, P., Fournier, J. P., Caillon, J., Beaudeau, F., & Moret, L. (2020). Risk factors of extended-spectrum beta-lactamases-producing escherichia coli community acquired urinary tract infections: A systematic review. *Infection and Drug Resistance*, *13*, 3945–3955.  
<https://doi.org/10.2147/IDR.S269033>
- Letunic, I., & Bork, P. (2021). Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic Acids Research*, *49*(W1), W293–W296. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKAB301>
- Lewis, J. S., & Bush, K. (2015). Antibacterial Agents. In *Manual of Clinical Microbiology* (pp. 1171–1211). wiley.  
<https://doi.org/10.1128/9781555817381.CH68;ISSUE:ISSUE:DOI>
- Lewis, J. S., Herrera, M., Wickes, B., Patterson, J. E., & Jorgensen, J. H. (2007). First report of the emergence of CTX-M-type extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) as the predominant ESBL isolated in a U.S. health care system. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *51*(11), 4015–4021.  
<https://doi.org/10.1128/AAC.00576-07/ASSET/D472FFEB-A011-4E90-8421-799A2D5E4792/ASSETS/GRAPHIC/ZAC0110769180001.JPEG>
- Lob, S. H., Nicolle, L. E., Hoban, D. J., Kazmierczak, K. M., Badal, R. E., & Sahn, D. F. (2016). Susceptibility patterns and ESBL rates of Escherichia coli from urinary tract infections in Canada and the United States, SMART 2010–2014. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, *85*(4), 459–465.  
<https://doi.org/10.1016/J.DIAGMICROBIO.2016.04.022>
- López-Jácome, L. E., Fernández-Rodríguez, D., Franco-Cendejas, R., Camacho-Ortiz, A., Morfin-Otero, M. D. R., Rodríguez-Noriega, E., Ponce-De-León, A., Ortiz-Brizuela, E., Rojas-Larios, F., Velázquez-Acosta, M. D. C., Mena-

- Ramírez, J. P., Rodríguez-Zulueta, P., Bolado-Martínez, E., Quintanilla-Cazares, L. J., Avilés-Benítez, L. K., Consuelo-Munoz, S., Choy-Chang, E. V., Feliciano-Guzmán, J. M., Couoh-May, C. A., ... Garza-González, E. (2022). Increment Antimicrobial Resistance during the COVID-19 Pandemic: Results from the Invifar Network. *Microbial Drug Resistance*, 28(3), 338–345. <https://doi.org/10.1089/mdr.2021.0231>
- Macesic, N., Uhlemann, A. C., & Peleg, A. Y. (2025). Multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *The Lancet*, 405(10474), 257–272. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(24\)02081-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)02081-6)
- Marín, M., & Gudiol, F. (2003). Antibióticos betalactámicos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 21(1), 42–55. [https://doi.org/10.1016/S0213-005X\(03\)72873-0](https://doi.org/10.1016/S0213-005X(03)72873-0)
- Márquez-Salazar, D. A., Delgadillo-Valles, R., Hernández-Acevedo, G. N., Barrios-Villa, E., Muñoz-Salazar, R., López-Valencia, G., Martínez-Miranda, R., & Arauz-Cabrera, J. (2025). Retrospective Study 2019–2021 of Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis* in Mexicali, Mexico. *Microbiology Research*, 16(6), 1–12. <https://doi.org/10.3390/microbiolres16060126>
- Martínez-Martínez, L., & González-López, J. J. (2014). Carbapenemases in Enterobacteriaceae: Types and molecular epidemiology. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 32(S4), 4–9. [https://doi.org/10.1016/S0213-005X\(14\)70168-5](https://doi.org/10.1016/S0213-005X(14)70168-5)
- Martinez Miranda, R., Estrada Guzman, J. D., Ayala Figueroa, R. I., Arauz Cabrera, J. I., Soria Rodriguez, C. G., & Delgadillo Valles, R. (2018). Identificación del perfil de resistencia y betalactamasas de espectro extendido en cepas uropatógenas de infecciones adquiridas en la comunidad e intrahospitalarias - Revista Electrónica de Portales Medicos.com. *Revista Electrónica de Portales Medicos.Com*, 8(8). <https://www.revista-portalesmedicos.com/revista-medica/identificacion-del-perfil-de-resistencia-y->

betalactamasas-de-espectro-extendido-en-cepas-uropatogenas-de-  
infecciones-adquiridas-en-la-comunidad-e-intrahospitalarias/

Mathers, A. J., Peirano, G., & Pitout, J. D. D. (2015). *Escherichia coli* ST131: The quintessential example of an international multiresistant high-risk clone.

*Advances in Applied Microbiology*, *90*, 109–154.

<https://doi.org/10.1016/BS.AAMBS.2014.09.002>

Mejía-Argueta, E. L., Santillán-Benítez, J. G., & Mejía-Juárez, J. (2022).

Identificación de cepas de *E. coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) aisladas en el Centro Médico ISSEMyM de Toluca.

*CIENCIA Ergo-Sum*, *29*(2). <https://doi.org/10.30878/CES.V29N2A5>

Méndez-Moreno, E., Caporal-Hernandez, L., Mendez-Pfeiffer, P. A., Enciso-

Martinez, Y., De la Rosa López, R., Valencia, D., Arenas-Hernández, M. M.

P., Ballesteros-Monrreal, M. G., & Barrios-Villa, E. (2022). Characterization of Diarrheagenic *Escherichia coli* Strains Isolated from Healthy Donors, including

a Triple Hybrid Strain. *Antibiotics*, *11*(7), 833.

<https://doi.org/10.3390/antibiotics11070833>

Miranda-Novales, G., Flores-Moreno, K., López-Vidal, Y., & Ponce de León-

Rosales, S. (2022). Limited Therapeutic Options in Mexico for the Treatment of Urinary Tract Infections. *Antibiotics*, *11*(11), 1656.

<https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS11111656>

Miranda-Romero, A. L., Silva-Sanchez, J., Garza-Ramos, U., Barrios, H.,

Sánchez-Pérez, A., & Reyna-Flores, F. (2017). Molecular characterization of ESBL-producing *Escherichia coli* isolates from hospital- and community-

acquired infections in NW Mexico. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, *87*(1), 49–52. <https://doi.org/10.1016/J.DIAGMICROBIO.2016.10.006>

Moglad, E. H. (2020). Antibiotics profile, prevalence of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL), and multidrug-resistant Enterobacteriaceae from different clinical samples in Khartoum State, Sudan. *International Journal of*

*Microbiology*, *2020*. <https://doi.org/10.1155/2020/8898430>

- Morfin-Otero, R., Mendoza-Olazarán, S., Silva-Sánchez, J., Rodríguez Noriega, E., Laca-Díaz, J., Tinoco-Carrillo, P., Petersen, L., Lopez, P., Reyna-Flores, F., Alcantar-Curiel, D., Garza-Ramos, U., & Garza-González, E. (2013). Characterization of Enterobacteriaceae Isolates Obtained from a Tertiary Care Hospital in Mexico . *Microbial Drug Resistance*, *19*(5), 378–383. <https://doi.org/10.1089/mdr.2012.0263>
- Movahedi, M., Zarei, O., Hazhirkamal, M., Karami, P., Shokoohizadeh, L., & Taheri, M. (2021). Molecular typing of Escherichia coli strains isolated from urinary tract infection by ERIC-PCR. *Gene Reports*, *23*, 101058. <https://doi.org/10.1016/J.GENREP.2021.101058>
- Murray, C. J., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A., Han, C., Bisignano, C., Rao, P., Wool, E., Johnson, S. C., Browne, A. J., Chipeta, M. G., Fell, F., Hackett, S., Haines-Woodhouse, G., Kashef Hamadani, B. H., Kumaran, E. A. P., McManigal, B., ... Naghavi, M. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, *399*(10325), 629–655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
- Neffe, L., Forde, T. L., Oravcova, K., Köhler, U., Bautsch, W., Tomasch, J., & Häussler, S. (2022). Genomic epidemiology of clinical ESBL-producing Enterobacteriaceae in a German hospital suggests infections are primarily community-and regionally-acquired. *Microbial Genomics*, *8*(12), 000901. <https://doi.org/10.1099/MGEN.0.000901/CITE/REFWORKS>
- Noster, J., Thelen, P., & Hamprecht, A. (2021). Detection of Multidrug-Resistant Enterobacterales-From ESBLs to Carbapenemases. *Antibiotics*. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10091140>
- Núñez-Samudio, V., Pecchio, M., Pimentel-Peralta, G., Quintero, Y., Herrera, M., & Landires, I. (2021). Molecular epidemiology of escherichia coli clinical isolates from central panama. *Antibiotics*, *10*(8), 1–9. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10080899>

- O'Neill, J. (2014). Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. *The Review on Antimicrobial Resistance*.
- Paterson, D. L., & Bonomo, R. A. (2005). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: A clinical update. *Clinical Microbiology Reviews*, 18(4), 657–686.  
<https://doi.org/10.1128/CMR.18.4.657-686.2005/ASSET/4492FF7A-9BA1-4099-B6C4-3ECFC546F9F1/ASSETS/GRAPHIC/ZCM0040521480001.JPEG>
- Pavez, M., Troncoso, C., Osses, I., Salazar, R., Illesca, V., Reydet, P., Rodríguez, C., Chahin, C., Concha, C., & Barrientos, L. (2019). High prevalence of CTX-M-1 group in ESBL-producing *enterobacteriaceae* infection in intensive care units in southern Chile. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 23(2), 102–110. <https://doi.org/10.1016/J.BJID.2019.03.002>
- Peirano, G., & Pitout, J. D. D. (2019). Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae: Update on Molecular Epidemiology and Treatment Options. *Drugs* 2019 79:14, 79(14), 1529–1541.  
<https://doi.org/10.1007/S40265-019-01180-3>
- Philippon, A., Jacquier, H., Ruppé, E., & Labia, R. (2019). Structure-based classification of class A beta-lactamases, an update. *Current Research in Translational Medicine*, 67(4), 115–122.  
<https://doi.org/10.1016/J.RETRAM.2019.05.003>
- Qin, T., Qian, H., Fan, W., Ma, P., Zhou, L., Dong, C., Gu, B., & Huo, X. (2017). Newest data on fluoroquinolone resistance mechanism of *Shigella flexneri* isolates in Jiangsu Province of China. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 6(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/S13756-017-0249-1>
- Quan, J., Zhao, D., Liu, L., Chen, Y., Zhou, J., Jiang, Y., Du, X., Zhou, Z., Akova, M., & Yu, Y. (2017). High prevalence of ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in community-onset bloodstream infections in China. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(1), 273–280.  
<https://doi.org/10.1093/JAC/DKW372>
- Ramírez-Castillo, F. Y., Moreno-Flores, A. C., Avelar-González, F. J., Márquez-

- Díaz, F., Harel, J., & Guerrero-Barrera, A. L. (2018). An evaluation of multidrug-resistant *Escherichia coli* isolates in urinary tract infections from Aguascalientes, Mexico: Cross-sectional study. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, *17*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/S12941-018-0286-5/TABLES/8>
- Reyna-Flores, F., Barrios, H., Garza-Ramos, U., Sánchez-Pérez, A., Rojas-Moreno, T., Uribe-Salas, F. J., Fagundo-Sierra, R., & Silva-Sanchez, J. (2013). Molecular epidemiology of *Escherichia coli* O25b-ST131 isolates causing community-acquired UTIs in Mexico. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, *76*(3), 396–398. <https://doi.org/110.1016/j.diagmicrobio.2013.03.026>
- Robles-Torres, J. I., Ocaña-Munguía, M. A., Madero Morales, P. A., Ruiz-Galindo, E., Garza-González, E., & Gómez-Guerra, L. (2020). Antimicrobial resistance and extended spectrum beta-lactamases in urinary tract infections: A serious problem in Northern Mexico. *Revista Mexicana de Urología*, *80*(2), 1–12.
- Rocha-Gracia, R., Ruiz, E., Romero-Romero, S., Lozano-Zarain, P., Somalo, S., Palacios-Hernández, J. M., Caballero-Torres, P., & Torres, C. (2010). Detection of the plasmid-borne quinolone resistance determinant qepA1 in a CTX-M-15-producing *Escherichia coli* strain from Mexico. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *65*(1), 169–171. <https://doi.org/10.1093/JAC/DKP418>
- Rodríguez-Beltrán, J., DelaFuente, J., León-Sampedro, R., MacLean, R. C., & San Millán, Á. (2021). Beyond horizontal gene transfer: the role of plasmids in bacterial evolution. *Nature Reviews Microbiology* *2021* *19*:6, *19*(6), 347–359. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00497-1>
- Rodríguez-Martínez, J. M., Cano, M. E., Velasco, C., Martínez-Martínez, L., & Pascual, Á. (2011). Plasmid-mediated quinolone resistance: An update. *Journal of Infection and Chemotherapy*, *17*(2), 149–182. <https://doi.org/10.1007/s10156-010-0120-2>

- Romero-Cabello, R., Romero-Peregrino, R., & Romero-Peregrino, R. (2024a). *Escherichia*. In *Microbiología y Parasitología Humana: Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias* (5º, pp. 525–541). Editorial Medica Panamericana.
- Romero-Cabello, R., Romero-Peregrino, R., & Romero-Peregrino, R. (2024b). Tratamiento Antimicrobiano. In *Microbiología y Parasitología Humana: Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias* (5º, pp. 839–842). Editorial Medica Panamericana.
- Roschanski, N., Fischer, J., Guerra, B., & Roesler, U. (2014). Development of a Multiplex Real-Time PCR for the Rapid Detection of the Predominant Beta-Lactamase Genes CTX-M, SHV, TEM and CIT-Type AmpCs in Enterobacteriaceae. *PLOS ONE*, 9(7), e100956.  
<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0100956>
- Saba Villarroel, P. M. (2013). *Caracterización de los determinantes de resistencia a  $\beta$ -lactámicos y quinolonas de localización plasmídica en enterobacterias*. Universidad de Buenos Aires.
- Saga, T., & Yamaguchi, K. (2009). History of antimicrobial agents and resistant bacteria. *Japan Medical Association Journal*, 52(2), 103–108.
- Salame-Khoury, L., Contreras-Pichardo, B., Arias-Rodríguez, S., Mondragón-Soto, M., Luis Cataneo-Serrato, J., Núñez-Martínez, M., Valente-Acosta, B., & Médico ABC, C. (2018). Epidemiología de las bacteriemias por *Escherichia coli* en dos hospitales de tercer nivel de la Ciudad de México. *Anales Médicos de La Asociación Médica Del Centro Médico ABC*, 63(2), 91–95.  
[www.medigraphic.org.mx](http://www.medigraphic.org.mx)
- Secretaria de Salud. (2014). Diagnóstico y Tratamiento de la Pielonefritis aguda no complicada en el adulto. *CENETEC*. <https://www.cenetec-difusion.com/CMGPC/SS-185-10/ER.pdf>
- Sepp, E., Andreson, R., Balode, A., Bilozor, A., Brauer, A., Egorova, S., Huik, K., Ivanova, M., Kaftyreva, L., Kõljalg, S., Kõressaar, T., Makarova, M.,

- Miciuleviciene, J., Pai, K., Remm, M., Rööp, T., & Naaber, P. (2019). Phenotypic and Molecular Epidemiology of ESBL-, AmpC-, and Carbapenemase-Producing *Escherichia coli* in Northern and Eastern Europe. *Frontiers in Microbiology*, *10*, 2465. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2019.02465/BIBTEX>
- Silago, V., Kovacs, D., Samson, H., Seni, J., Matthews, L., Oravcová, K., Lupindu, A. M., Hoza, A. S., Mshana, S. E., & Maraolo, E. (2021). Existence of Multiple ESBL Genes among Phenotypically Confirmed ESBL Producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* Concurrently Isolated from Clinical, Colonization and Contamination Samples from Neonatal Units at Bugando Medical Center, Mwanza, Ta. *Antibiotics*. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050476>
- Silva-Sanchez, J., Barrios, H., Reyna-Flores, F., Bello-Diaz, M., Sanchez-Perez, A., Rojas, T., Bacterial Resistance Consortium, & Garza-Ramos, U. (2011). Prevalence and characterization of plasmid-mediated quinolone resistance genes in extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae isolates in Mexico. *Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)*, *17*(4), 497–505. <https://doi.org/10.1089/mdr.2011.0086>
- Silva-Sánchez, J., Cruz-Trujillo, E., Barrios, H., Reyna-Flores, F., Sánchez-Pérez, A., Garza-Ramos, U., Morfin-Otero, R., Rodríguez-Noriega, E., Novales, G. M., Solórzano, F., Díaz, R., Ramírez, F., Gil, L. P., & Garza, E. (2013). Characterization of plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR) genes in extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae pediatric clinical isolates in Mexico. *PloS One*, *8*(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077968>
- Silva-Sanchez, J., Garza-Ramos, J. U., & Reyna-Flores, F. (2011). Extended-spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae Causing Nosocomial Infections in Mexico . A Retrospective and Multicenter Study. *Archives of Medical Research*, *42*, 156–162. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2011.02.004>

- Silva, J., Aguilar, C., Ayala, G., Estrada, M. A., Garza-Ramos, U., Lara-Lemus, R., & Ledezma, L. (2000). TLA-1: a New Plasmid-Mediated Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase from *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44(4), 997–1003. <https://doi.org/10.1128/AAC.44.4.997-1003.2000>
- Tamma, P. D., Heil, E. L., Justo, J. A., Mathers, A. J., Satlin, M. J., & Bonomo, R. A. (2024). Infectious Diseases Society of America 2024 Guidance on the Treatment of Antimicrobial-Resistant Gram-Negative Infections. *Clinical Infectious Diseases*. <https://doi.org/10.1093/cid/ciae403>
- Torumkune, D., De La Torre, C., Langfeld, K., Lopez-Turrent, N. P., & Ossaille Beltrame, C. (2022). Country data on AMR in Mexico in the context of community-acquired respiratory tract infections: links between antibiotic susceptibility, local and international antibiotic prescribing guidelines, access to medicine and clinical outcome. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 77(Supplement\_1), i43–i50. <https://doi.org/10.1093/JAC/DKAC216>
- Trautner, B. W., Cortés-penfield, N. W., Gupta, K., Hirsch, E. B., Horstman, M., Moran, G. J., Colgan, R., Horo, J. C. O., Ashraf, M. S., Connolly, S., Drekonja, D., & Grigoryan, L. (2025). Clinical Practice Guideline by Infectious Diseases Society of America (IDSA): 2025 Guideline on Management and Treatment of Complicated Urinary Tract Infection. *Idsa*, 1–60. <https://online.flippingbook.com/view/320080254/56/>
- Tunkel, A. R., Hartman, B. J., Kaplan, S. L., Kaufman, B. A., Roos, K. L., Scheld, W. M., & Whitley, R. J. (2004). *Practice Guidelines for the Management of Bacterial Meningitis*. 19129(August), 1267–1284.
- Vieira, D. C., Lima, W. G., & de Paiva, M. C. (2020). Plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR) among Enterobacteriales in Latin America: a systematic review. *Molecular Biology Reports*, 47(2), 1471–1483. <https://doi.org/10.1007/S11033-019-05220-9/FIGURES/2>
- Walker, D. I., McQuillan, J., Taiwo, M., Parks, R., Stenton, C. A., Morgan, H., Mowlem, M. C., & Lees, D. N. (2017). A highly specific *Escherichia coli* qPCR

and its comparison with existing methods for environmental waters. *Water Research*, 126, 101–110. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2017.08.032>

Whelan, S., Lucey, B., & Finn, K. (2023). Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC)-Associated Urinary Tract Infections: The Molecular Basis for Challenges to Effective Treatment. *Microorganisms* 2023, Vol. 11, Page 2169, 11(9), 2169. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS11092169>

Wilke, M. S., Lovering, A. L., & Strynadka, N. C. J. (2005).  $\beta$ -Lactam antibiotic resistance: a current structural perspective. *Current Opinion in Microbiology*, 8(5), 525–533. <https://doi.org/10.1016/J.MIB.2005.08.016>

World Health Organization. (2025). *Global antibiotic resistance surveillance report 2025*.

## 12. ANEXOS

### Anexo A. Inoculación e interpretación de pruebas bioquímicas

#### Inoculación

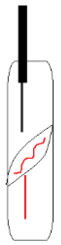
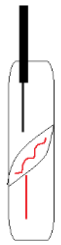

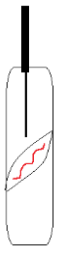
##### MATERIALES Y EQUIPO:

- Cajas Petri con: Agar  
MacConkey, AST
- Asas bacteriológicas redondas  
(para uso exclusivo del  
cepario)
- Asas bacteriológicas en punta
- Mechero de gas o lámpara de  
alcohol
- Marcadores permanentes
- Libro de registro
- Tubos de ensayo con los  
medios de cultivo
- Incubadora
- Refrigerador

##### PROCEDIMIENTO

###### A) MEDIOS SÓLIDOS

1. Limpiar el área de trabajo y desinfectar con Fenol 5% en solución acuosa
2. Rotular los tubos de cada prueba a ser realizada con los siguientes datos, acorde con lo registrado en la bitácora del CEPARIO
  - a. Identificación
  - b. Fecha de resiembra
3. Encender el mechero y esterilizar el asa en la llama del mechero, enfriar en el agar donde no haya crecimiento y tomar de una colonia aislada un poco con la punta del asa.
4. Inocular introduciendo el asa dentro del agar, de forma vertical y con estría en la superficie, como se muestra en la imagen y de acuerdo al siguiente cuadro

<b>TSI</b>	<b>LIA</b>	<b>SIM</b>	<b>Citrato de Simmons</b>
fondo y superficie	Fondo y superficie	Punción vertical	Superficie
			

5. Flamear la boca del tubo de ensayo y cerrarlo
6. Esterilizar el asa en la llama del mechero.
7. Incubar a 37°C durante 24 horas e interpretar resultados.

#### B) MEDIOS LÍQUIDOS

8. Limpiar el área de trabajo y desinfectar con Fenol 5% en solución acuosa
9. Rotular los tubos de cada prueba a ser realizada con los siguientes datos, acorde con lo registrado en la bitácora del CEPARIO
  - a. Identificación
  - b. Fecha de resiembra
10. Encender el mechero y esterilizar el asa en la llama del mechero, enfriar en el agar donde no haya crecimiento y tomar de una colonia aislada un poco con la punta del asa.
11. Abrir el tubo y flamear la boca del tubo.
12. Inclinar el tubo y colocar el inóculo sobre la pared interior del tubo, de forma que al colocarlo verticalmente el medio de cultivo lo cubra. Observar la imagen de referencia



13. Flamear la boca del tubo de ensayo y cerrarlo
14. Esterilizar el asa en la llama del mechero.
15. Incubar a 37°C durante 24 horas e interpretar resultados.

### **Interpretación**

- 1.- Observar los cambios en el medio y registrar resultados según la siguiente tabla
- 2.- Para la producción de INDOL seguir los siguientes pasos.
  - a. Fragmentar el medio de cultivo mediante agitación o ligeros golpes en el tubo con los dedos
  - b. Agregar 8 gotas de Xilol y dejar reposar.
  - c. Posteriormente agregar 2 gotas de reactivo de Erlich y observar. La generación de coloración rosa-rojiza al agregar el reactivo al tubo indica que la cepa es Indol Positiva.

**Tabla 17. Interpretación de pruebas bioquímicas**

<b>Prueba</b>	<b>Positiva</b>	<b>Negativa</b>
<b>TSI</b>	A- Reacción ácida, color amarillo	K- Reacción alcalina, color rojo
<b>LIA</b>	Superficie alcalina / profundidad alcalina (pico y fondo violeta).	Superficie alcalina / profundidad ácida (pico violeta y fondo amarillo)
<b>Citrato de Simmons</b>	Crecimiento en el medio y cambio a color azul	Sin crecimiento y con color verde.
<b>Motilidad</b>	Turbidez alrededor de la estría o colonias alejadas de la estría	Sin turbidez ni colonias fuera de la estría
<b>Sulfuro</b>	Formación de pigmentación negra	Sin pigmentación negra
<b>Indol</b>	Coloración rojiza al agregar el reactivo de Erlich	Sin cambios de color
<b>Malonato</b>	Coloración Azul	Sin cambio de color (Verde)
<b>Sorbitol</b>	El medio se torna amarillo	El color del medio no cambia (rosa, rojo)
<b>Lactosa</b>	El medio se torna amarillo	El color del medio no cambia (rosa, rojo)

## **Anexo B. Extracción de ADN plasmídico de *E. Coli* (Miniprep 100T) MODIFICADO**

### **MATERIAL Y EQUIPO**

- Nanopartículas magnéticas
- Buffer de suspensión
- Buffer de lisis
- Buffer de Neutralización
- Isopropanol
- Buffer de lavado
- Buffer de elución
- Gradilla magnética
- Termoblock
- Tubos eppendorf
- Centrifuga
- Hielo

### **PROCEDIMIENTO**

1. Colectar una colonia de la placa de medio de cultivo e inocular en un tubo con 3mL de CST. Incubar a 37°C durante la noche (de 12 a 18 horas).
2. Homogenizar y transferir 1.5 mL del cultivo a un tubo eppendorf estéril.
3. Centrifugar a máxima velocidad (13,000 RPM) durante 5 min a temperatura ambiente.
4. Descartar el sobrenadante en una solución de cloro.
5. Agregar 100 µL de Buffer de suspensión (P1, contiene RNAsa) al tubo y dar pulsos de vortex para resuspender el pellet de células. Dejar reposar durante 5 min.
6. Agregar 100µL de buffer de lisis (P2). Mezclar con cuidado invirtiendo el tubo 10 veces. La solución se volverá transparente y más viscosa, indicando que se llevó a cabo la lisis bacteriana.
7. Agregar 5 µL de nanopartículas magnéticas al sobrenadante y mezclar invirtiendo el tubo varias veces.
8. Agregar 300 µL de isopropanol frio y mezclar invirtiendo el tubo varias veces
9. Colocar el tubo en la gradilla magnética por 2 min y remover el sobrenadante.
10. Agregar 300 µL de buffer de lavado en al tubo. Mezclar por inversiones. Colocar en la gradilla magnética durante 2 min y remover el sobrenadante. Repetir el paso anterior, removiendo el sobrenadante por completo.
11. Colocar el tubo en el termobloque a 60°C 3 min y dejar evaporar el alcohol. Mantener los tubos cerrados.

12. Agregar 50  $\mu\text{L}$  de buffer de elución al tubo y eluir durante 10 min a 60°C.
13. Transferir el sobrenadante a un tubo nuevo y estéril de 0.2ml.
14. Cuantificar utilizando nanodrop y registrar los resultados.
15. Almacenar la solución de ADN a -20°C para usos futuros.

**Anexo C:** Artículo de investigación “Coexistence of PMQR and ESBL genes among clinical *Escherichia coli* isolates from community-acquired UTI in Mexicali, on the US-Mexico border” <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2025.104554>

Braz J Infect Dis. 29 (2025) 104554



Contents lists available at ScienceDirect

Brazilian Journal of Infectious Diseases

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/bjid](http://www.elsevier.com/locate/bjid)



Original Article

Coexistence of PMQR and ESBL genes among clinical *Escherichia coli* isolates from community-acquired UTI in Mexicali, on the US-Mexico border



Dolores A. Marquez-Salazar<sup>a</sup>, Ricardo Delgadillo-Valles<sup>b</sup>,  
Gerson N. Hernandez-Acevedo<sup>b</sup>, Edwin Barrios-Villa<sup>c</sup>, Raquel Muñoz-Salazar<sup>d</sup>,  
Gilberto Lopez-Valencia<sup>e</sup>, Paulina Haro<sup>e</sup>, Enrique Trasviña-Muñoz<sup>e</sup>,  
Rafael Martinez-Miranda<sup>f</sup>, Jonathan Arauz-Cabrera<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Universidad Autónoma de Baja California, Facultad de Medicina Mexicali, Departamento de Farmacología, Humberto Torres Sanginés SN, Centro Cívico, Mexicali, Baja California, Mexico

<sup>b</sup> Universidad Autónoma de Baja California, Facultad de Medicina Mexicali, Departamento de Microbiología y Parasitología Clínica, Humberto Torres Sanginés SN, Centro Cívico, Mexicali, Baja California, Mexico

<sup>c</sup> Universidad de Sonora, Campus Caborca, Departamento de Ciencias Químico Biológicas y Agropecuarias, Laboratorio de Biología Molecular y Genómica Sonora, Mexico

<sup>d</sup> Universidad Autónoma de Baja California, Escuela de Ciencias de la Salud, Unidad Valle Dorado, Campus Ensenada, Laboratorio de Epidemiología y Ecología Molecular, Baja California, Mexico

<sup>e</sup> Universidad Autónoma de Baja California, Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, Baja California, Mexico

<sup>f</sup> Hospital Almatier, Departamento de Microbiología, Mexicali, Baja California, Mexico

ARTICLE INFO

**Keywords:**  
*Escherichia coli*  
Resistotype  
Community-acquired infection  
ESBL  
PMQR

ABSTRACT

*Escherichia coli* is an opportunistic pathogen and a leading cause of Community-Acquired Urinary Tract Infections (CA-UTIs). *E. coli* can harbor multiple genetic resistant determinants, such as Extended Spectrum Beta-lactamases (ESBL) and Plasmid-Mediated Quinolone Resistance (PMQR) genes, complicating the empirical treatment of UTIs with  $\beta$ -lactams and quinolones. The aim of his study was to characterize ESBL and PMQR genes among *E. coli* isolates from CA-UTI in Mexicali, Mexico. Isolates were collected from January to December 2023. Identification was performed by MALDI-TOF, and ESBL-producing determination and antimicrobial susceptibility by Vitek 2. Detection of ESBL and PMQR, and phylotyping were performed by PCR. Genetic diversity was determined by Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus Polymerase Chain Reaction (ERIC-PCR). Eighty-nine *E. coli* isolates were collected from CA-UTIs. All exhibited resistance to ciprofloxacin, ceftriaxone, and cefotaxime, while being susceptible to carbapenems and ceftazidime/avibactam. All isolates tested positive for an ESBL gene, with *bla*<sub>CTX-M</sub> (98.9 %) being the most prevalent. Five isolates tested negative for PMQR genes; the remaining showed *aac*(6)-*Ib-cr* present in 85.3 %. Coexistence between ESBL and PMQR genes was noted in 95.5 %. Most prevalent phylogenetic group was group B2 (74.2 %). This study provides valuable regional data, highlighting a public health problem due to the high prevalence of ESBL and PMQR genes in *E. coli* responsible for CA-UTI, which are linked to multidrug resistance. Genetic diversity was found, suggesting multiple sources of resistant strains in the community. These findings underline the need for surveillance and control to limit the spread of resistant *E. coli*, locally and globally.

**Data summary:** The authors confirm all supporting data, code, and protocols have been provided within the article or through supplementary data files.

\* Corresponding author.  
E-mail address: [jarauz@uabc.edu.mx](mailto:jarauz@uabc.edu.mx) (J. Arauz-Cabrera).

<https://doi.org/10.1016/j.bjid.2025.104554>

Received 21 November 2024; Accepted 5 May 2025

Available online 23 May 2025

1413-8670/© 2025 Published by Elsevier España, S.L.U. on behalf of Sociedade Brasileira de Infectologia. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Anexo D: Artículo de investigación "Retrospective Study 2019-2021 of Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Proteus mirabilis* in Mexicali, Mexico" <https://doi.org/10.3390/microbiolres16060126>**



Article

## Retrospective Study 2019–2021 of Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis* in Mexicali, Mexico

Dolores A. Márquez-Salazar <sup>1</sup> , Ricardo Delgado-Valles <sup>2</sup> , Gerson N. Hernández-Acevedo <sup>2</sup> , Edwin Barrios-Villa <sup>3</sup> , Raquel Muñiz-Salazar <sup>4</sup> , Gilberto López-Valencia <sup>5</sup>, Rafael Martínez-Miranda <sup>6</sup> and Jonathan Arauz-Cabrera <sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina Mexicali, Universidad Autónoma de Baja California, Humberto Torres Sanginés SN, Centro Cívico, Mexicali C.P. 21000, BC, Mexico; marquezd@uabc.edu.mx

<sup>2</sup> Departamento de Microbiología y Parasitología Clínica, Facultad de Medicina Mexicali, Universidad Autónoma de Baja California, Humberto Torres Sanginés SN, Centro Cívico, Mexicali C.P. 21000, BC, Mexico; ricardo.delgado@uabc.edu.mx (R.D.-V); reyhernandez@uabc.edu.mx (G.N.H.-A.)

<sup>3</sup> Laboratorio de Biología Molecular y Genómica, Departamento de Ciencias Químico Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Sonora, Campus Caborca, Av. Universidad e Irigoyen S/N, H. Caborca C.P. 83621, SO, Mexico; edwin.barrios@unison.mx

<sup>4</sup> Laboratorio de Epidemiología y Ecología Molecular, Escuela de Ciencias de la Salud, Unidad Valle Dorado, Campus Ensenada, Universidad Autónoma de Baja California, Blvd. Zertuche y Blvd. de los Lagos s/n Fracc. Valle Dorado, Ensenada C.P. 22890, BC, Mexico; ramusal@uabc.edu.mx

<sup>5</sup> Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma de Baja California, Carr. San Felipe km 3.5, Fracc, Campestre, Mexicali C.P. 21386, BC, Mexico; gilbertlopez@uabc.edu.mx

<sup>6</sup> Departamento de Microbiología, Hospital Almater, Avenida Francisco I. Madero 1060, Colonia Nueva, Mexicali C.P. 21000, BC, Mexico; microbiologia@almater.com

\* Correspondence: jarauz@uabc.edu.mx



Academic Editor: Vincenzo Cuteri

Received: 28 April 2025

Revised: 5 June 2025

Accepted: 6 June 2025

Published: 11 June 2025

**Citation:** Márquez-Salazar, D.A.; Delgado-Valles, R.; Hernández-Acevedo, G.N.; Barrios-Villa, E.; Muñiz-Salazar, R.; López-Valencia, G.; Martínez-Miranda, R.; Arauz-Cabrera, J. Retrospective Study 2019–2021 of Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis* in Mexicali, Mexico. *Microbiol. Res.* **2025**, *16*, 126. <https://doi.org/10.3390/microbiolres16060126>

**Copyright:** © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** Community-acquired infections caused by Enterobacterales are a growing public health concern, particularly in border regions where patient mobility may influence resistance patterns. Antimicrobial resistance (AMR) surveillance is critical for establishing local treatment guidelines. The aim of this study was to investigate AMR rates in clinical isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis* obtained from community-acquired infections in Mexicali between 2019 and 2021. A retrospective study was conducted, analyzing 2871 Enterobacterales isolates (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*). Species identification and antimicrobial susceptibility testing were performed using MALDI-TOF and VITEK 2 systems, interpreted according to CLSI and EUCAST breakpoints. ESBL production was detected in 37.6% of *E. coli*, 27.7% of *K. pneumoniae*, and none of the *P. mirabilis* isolates. Among ESBL producers, ciprofloxacin resistance reached 90.4% in *E. coli* and 81.0% in *K. pneumoniae*, indicating a significant level of co-resistance. Carbapenem-resistant *K. pneumoniae* ( $n = 13$ ) and one *E. coli* isolate were also identified, all from community-acquired infections. Resistance patterns varied by infection site, with UTIs accounting for the majority of isolates. The high rates of ESBLs and co-resistance to ciprofloxacin among Enterobacterales highlight the urgent need for targeted AMR surveillance and site-specific empirical treatment strategies.

**Keywords:** *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae*; *Proteus mirabilis*; community-acquired infection; AMR; ESBLs; co-resistance

**Anexo E:** Artículo de colaboración "Investigación del perfil de resistencia a betalactámicos en cepas clínicas de *Pseudomonas aeruginosa* en Mexicali, 2019-2021" <https://doi.org/10.1016/j.ram.2024.10.002>

Revista Argentina de Microbiología 56 (2024) 368–372



REVISTA ARGENTINA DE  
MICROBIOLOGÍA

[www.elsevier.es/ram](http://www.elsevier.es/ram)



INFORME BREVE

**Investigación del perfil de resistencia a betalactámicos en cepas clínicas de *Pseudomonas aeruginosa* en Mexicali, 2019-2021**



Ricardo Delgadillo-Valles <sup>a</sup>, Dolores A. Marquez-Salazar <sup>a</sup>,  
Donato A. Rechy-Irurettagoyena <sup>b</sup>, Gerson N. Hernandez-Acevedo <sup>b,\*</sup>,  
Jonathan I. Arauz-Cabrera <sup>a</sup> y Edwin Barrios-Villa <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Microbiología y Parasitología Clínica, Facultad de Medicina Mexicali, Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, Baja California, México

<sup>b</sup> Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina Mexicali, Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, Baja California, México

<sup>c</sup> Laboratorio de Biología Molecular y Genómica, Departamento de Ciencias Químico-Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Sonora, Campus Caborca, Caborca, Sonora, México

Disponible en Internet el 20 de noviembre de 2024

**PALABRAS CLAVE**

Antimicrobianos;  
resistencia;  
carbapenémicos;  
multidrogorresistencia

**Resumen** *Pseudomonas aeruginosa* es un bacilo gram negativo capaz de desarrollarse en ambientes húmedos y tejido animal. El interés en esta bacteria surge de su capacidad para producir enfermedades oportunistas en pacientes con fibrosis quística e infecciones asociadas a la atención de la salud (IAAS). El objetivo de nuestro trabajo fue caracterizar el perfil de resistencia a antimicrobianos de un conjunto de cepas aisladas en nuestra comunidad (zona de Mexicali, México) causantes de IAAS. Este fue un estudio descriptivo, prospectivo y transversal. Las cepas se aislaron entre enero de 2019 y diciembre de 2021 en una unidad asistencial privada dependiente de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC). Se empleó espectrometría de masas por desorción/ionización láser asistida por matriz (MALDI-TOF) para la identificación. La detección de resistencia a betalactámicos se efectuó según los criterios *Clinical and Laboratory Standard Institutes* (CLSI), documento M100-S27. Se obtuvieron 649 muestras en el período mencionado, 335 de expectoración, 119 de orina y 91 de herida como los sitios mayoritarios. La proporción de cepas resistentes a los carbapenémicos comprendió un 38,94% resistente a meropenem y un 21,97% a imipenem. Para el caso de las cefalosporinas, se encontró un 21,05% resistente a cefepima, un 22,9% a ceftazidima y un 24,78% a ceftolozano-tazobactam. La resistencia a los antimicrobianos se ha vuelto más prevalente a lo largo del tiempo en este agente infeccioso, lo que puede atribuirse tanto a la presión selectiva como a la evolución de los propios microorganismos.

© 2024 Los Autores. Publicado por Elsevier España, S.L.U. en nombre de Asociación Argentina de Microbiología. Este es un artículo Open Access bajo la CC BY-NC-ND licencia (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [ney.hernandez@uabc.edu.mx](mailto:ney.hernandez@uabc.edu.mx) (G.N. Hernandez-Acevedo).

<https://doi.org/10.1016/j.ram.2024.10.002>

0325-7541/© 2024 Los Autores. Publicado por Elsevier España, S.L.U. en nombre de Asociación Argentina de Microbiología. Este es un artículo Open Access bajo la CC BY-NC-ND licencia (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

# Anexo F: Artículo de colaboración "Genomic Profile of a Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Strain Isolated from a Urine Specimen"

<https://doi.org/10.1007/s00284-024-03802-w>

Current Microbiology (2024) 81:276  
<https://doi.org/10.1007/s00284-024-03802-w>

SHORT COMMUNICATION



## Genomic Profile of a Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Strain Isolated from a Urine Specimen

Jonathan Arauz-Cabrera<sup>1</sup> · Dolores Marquez-Salazar<sup>1</sup> · Ricardo Delgadillo-Valles<sup>2</sup> · Liliana Caporal-Hernandez<sup>3</sup> · Gerson N. Hernandez-Acevedo<sup>2</sup> · Edwin Barrios-Villa<sup>3</sup>

Received: 28 May 2024 / Accepted: 10 July 2024  
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2024

### Abstract

*Klebsiella pneumoniae* is an opportunistic pathogen mostly found in health care-associated infections but can also be associated with community-acquired infections and is in critical need of new antimicrobial agents for strains resistant to carbapenems. The prevalence of carbapenemase-encoding genes varies among studies. Multidrug-resistant *K. pneumoniae* strains can harbor several antimicrobial-resistant determinants and mobile genetic elements (MGEs), along with virulence genetic determinants in community settings. We aim to determine the genetic profile of a multidrug-resistant *K. pneumoniae* strain isolated from a patient with community-acquired UTI. We isolated a *K. pneumoniae* strain UABC-Str0120, from a urine sample of community-acquired urinary tract infection. Antimicrobial susceptibility tests and Whole-genome sequencing (WGS) were performed. The phylogenetic relationship was inferred by SNPs calling and filtering. UABC-Str0120 showed resistance toward  $\beta$ -lactams, combinations with  $\beta$ -lactamase inhibitors, and carbapenems. WGS revealed the presence of genes conferring resistance to aminoglycosides,  $\beta$ -lactams, carbapenems, quinolones, sulfonamides, phosphonates, phenicols, and quaternary ammonium compounds, 77 subsystems of virulence genes were identified, and an uncommon sequence type ST5889 was also determined. The sequenced strain harbors several MGEs. The UABC-Str0120 recovered from a urine sample harbors several virulence and antimicrobial resistance determinants, which assembles an endangering combination for an immunocompromised or a seemingly healthy host, given its presence in a community setting.

The draft genome of *K. pneumoniae* Str-UABCK0120 has been deposited at DDBJ/ENA/GenBank under the accession JAYMCU000000000. The version described in this paper is version JAYMCU010000000 and the project accession number PRJNA1064227.

✉ Edwin Barrios-Villa  
edwin.barrios@unison.mx

<sup>1</sup> Facultad de Medicina Mexicali, Departamento de Farmacología, Universidad Autónoma de Baja California, Humberto Torres Sanginés SN, Centro Cívico, Mexicali, Baja California, México CP. 21000

<sup>2</sup> Facultad de Medicina Mexicali, Departamento de Microbiología y Parasitología Clínica, Universidad Autónoma de Baja California, Humberto Torres Sanginés SN, Centro Cívico, Mexicali, Baja California, México CP. 21000

<sup>3</sup> Laboratorio de Biología Molecular y Genómica, Departamento de Ciencias, Químico Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Sonora, Universidad e Irigoyen S/N, Campus Caborca. Av., H. Caborca, Sonora, México CP. 83621

### Introduction

Antimicrobial resistance (AMR) has become one of the most critical burden health issues in recent years, escalating faster than the pace of antibiotic development, reducing therapeutic alternatives and increasing treatment costs [1]. *Klebsiella pneumoniae* is an opportunistic pathogen gram-negative bacillus, is considered a commensal of the gut microbiota, and is responsible for urinary tract infections (UTI), respiratory tract, and bloodstream infections [2]. It is frequently associated with nosocomial infections and community-acquired infections [3]. According to the World Health Organization, *K. pneumoniae* is a pathogen with a critical need for new antimicrobial agents for strains producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBL) and resistant to carbapenems [4].

The prevalence of Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) and the carbapenemase-encoding genes may vary widely among studies [5]. These genes, such as *K. pneumoniae* carbapenemases (*bla*<sub>KPC</sub>), are mainly located at Mobilizable Genetic Elements such as plasmids

Published online: 18 July 2024

Springer