



FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

CARACTERIZACIÓN GENÓMICA DE AISLADOS DE Escherichia coli Y
Klebsiella sp. DE CULTIVOS DE SANGRE Y ORINA PROVENIENTES DE
PACIENTES DE UN HOSPITAL PEDIÁTRICO EN LIMA- PERÚ

Línea de investigación:
Salud Pública

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciada en Biología

Autora

Huancachoque Molina, Janet Ruth

Asesor

Salas Ascencios, Ramsés

ORCID: 0000-0002-4075-1736

Jurado

Yupanqui Siccha, Gisela Francisca

Riveros Ramirez , Maribel Denise

Cuya Briones, Miryan Rebeca

Lima - Perú

2024

CARACTERIZACIÓN GENÓMICA DE AISLADOS DE Escherichia coli Y Klebsiella sp. DE CULTIVOS DE SANGRE Y ORINA PROVENIENTES DE PACIENTES DE UN HOSPITAL PEDIÁTRICO EN LIMA- PERÚ

INFORME DE ORIGINALIDAD

23%

INDICE DE SIMILITUD

19%

FUENTES DE INTERNET

5%

PUBLICACIONES

9%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

Submitted to Universidad Peruana Cayetano Heredia

Trabajo del estudiante

4%

2

hdl.handle.net

Fuente de Internet

3%

3

buleria.unileon.es

Fuente de Internet

1%

4

repositorio.unfv.edu.pe

Fuente de Internet

1%

5

docplayer.es

Fuente de Internet

1%

6

www.mdpi.com

Fuente de Internet

1%

7

alicia.concytec.gob.pe

Fuente de Internet

1%

8

ouci.dntb.gov.ua

Fuente de Internet

1%

9

documents.mx

Fuente de Internet

1%

10

repositorio.uap.edu.pe

Fuente de Internet

<1%

revistas.upch.edu.pe



Universidad Nacional
Federico Villarreal

VRIN | VICERRECTORADO
DE INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

CARACTERIZACIÓN GENÓMICA DE AISLADOS DE *Escherichia coli* Y *Klebsiella* sp.
DE CULTIVOS DE SANGRE Y ORINA PROVENIENTES DE PACIENTES DE UN
HOSPITAL PEDIÁTRICO EN LIMA- PERÚ

Línea de Investigación:

Salud Pública

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciada en Biología

Autora:

Huancachoque Molina, Janet Ruth

Asesor:

Salas Ascencios, Ramsés

ORCID:0000-0002-4075-1736

Jurado:

Yupanqui Siccha, Gisela Francisca

Riveros Ramirez , Maribel Denise

Cuya Briones, Miryan Rebeca

Lima – Perú

2024

Agradecimientos:

Agradezco a Dios, por guiarme siempre y darme fortaleza.

A mis padres y hermano por su paciencia y apoyo incondicional desde siempre.

A mis asesores y compañeros del Laboratorio de Genómica Microbiana de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, que me apoyaron y guiaron en el desarrollo de mi tesis.

Al Instituto de Salud del Niño San Borja, en especial al Dr. Santillán por su interés y apoyo en la ejecución del proyecto.

ÍNDICE

Resumen	8
Abstract.....	9
I. INTRODUCCIÓN.....	10
1.1. Descripción y formulación del Problema	11
1.2. Antecedentes	13
1.3. Objetivos	18
1.3.1. Objetivo general	18
1.3.2. Objetivos específicos.....	18
1.4. Justificación.....	18
II. MARCO TEÓRICO	21
2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación.....	21
2.1.1. Escherichia coli	21
2.1.2. Género Klebsiella.....	21
2.1.3. Antibióticos	22
2.1.3.1. Familias de antibióticos.	22
a. Penicilinas.....	22
b. Aminoglucósidos:	22
c. Cefalosporinas.....	23
2.1.3.2. Mecanismos de acción de los antibióticos.	23
A. Interferencia en la síntesis de la pared celular.	23

2.1.4. Susceptibilidad a los antimicrobianos	24
2.1.5. Resistencia a los antibióticos.....	24
2.1.5.1. Tipos de resistencia.	25
2.1.6. Mecanismos de resistencia a los antibióticos	25
2.1.6.1. Modificación enzimática del antibiótico.	25
2.1.6.2. Bombas de salida.....	26
2.1.6.3. Cambios en la permeabilidad de la membrana.....	26
2.1.6.4. Alteraciones del sitio activo.....	26
2.1.7. Clasificación de betalactamasas.....	27
2.1.7.1. Betalactamasas tipo AmpC.....	27
2.1.7.2. Betalactamasas de espectro extendido (BLEE).	27
2.1.7.3. Carbapenemasas	28
III. MÉTODO	29
3.1. Tipo de investigación.....	29
3.2. Ámbito temporal y espacial	29
3.3. Variables.....	29
3.4. Población y muestra	30
3.5. Instrumentos	30
3.6. Procedimientos	31
3.6.1. Estudios Microbiológicos.....	31
3.6.1.1. Identificación.....	31
3.6.1.2. Determinación de la susceptibilidad antimicrobiana.	31

A.	Detección de las betalactamasas de espectro extendido (BLEE).....	31
B.	Detección de betalactamasas tipo AmpC.	32
C.	Detección de carbapenemasas.	32
3.6.1.3.	Criopreservación.....	32
3.6.1.4.	Extracción de DNA.	32
3.6.2.	Estudios genómicos.....	32
3.6.2.1.	Secuenciamiento de genomas.	32
3.6.2.2.	Análisis bioinformático.	33
3.7.	Análisis de datos	33
3.8.	Consideraciones éticas	34
IV.	RESULTADOS.....	35
V.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	45
VI.	CONCLUSIONES.....	51
VII.	RECOMENDACIONES.....	52
VIII.	REFERENCIAS	53
IX.	ANEXOS.....	65

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Diferentes grupos de β -lactamasas de espectro extendido.....	27
Tabla 2	Caracterización fenotípica de aislados de <i>Escherichia coli</i>	36
Tabla 3	Caracterización fenotípica de aislados de <i>Klebsiella pneumoniae</i> (KpSC).....	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Prevalencia de genes betalactámicos en aislados de <i>E. coli</i>	38
Figura 2 Prevalencia de genes betalactámicos en aislados de <i>K. pneumoniae</i> (KpSC)	39
Figura 3 Frecuencia de ST en aislados de <i>E. coli</i> de urocultivos y hemocultivos.....	40
Figura 4 Frecuencia de ST en aislados de <i>K. pneumoniae</i> (KpSC) de urocultivos y hemocultivos	41
Figura 5 Filogenia, distribución de genes de resistencia, secuenciotipos (ST), serotipos, según el año y origen de muestreo de <i>E. coli</i>	43
Figura 6 Filogenia, distribución de genes de resistencia, secuenciotipos(ST) según el año y origen de muestreo de <i>K. pneumoniae</i>	44

Resumen

Objetivo: Caracterizar el genoma de aislados de *Escherichia coli* y *Klebsiella* sp. provenientes de cultivos de sangre y orina de pacientes de un hospital pediátrico de Lima, Perú, durante los meses de diciembre 2018 a mayo 2019. **Método:** Se diseñó un trabajo descriptivo y transversal, colectando aislados bacterianos de urocultivos y hemocultivos de pacientes de un hospital pediátrico. Se caracterizaron por pruebas bioquímicas y se evaluó la susceptibilidad antibiótica y mecanismos de resistencia por medio de discos de difusión. A través de secuenciamiento de nueva generación (NGS), mediante la tecnología Illumina, se secuenciaron los genomas bacterianos y se analizaron por métodos bioinformáticos para determinar su variedad genética y genes asociados a resistencia antimicrobiana. **Resultados:** Los antibióticos con mayor resistencia para *E. coli* fueron amoxicilina (82.4%), ácido nalidíxico(76.5%), tetraciclina y piperacilina (61.8%) y para *K. pneumoniae* amoxicilina(94.1%), tetraciclina(64.7%), trimetoprim/sulfametoxazol (64.7%) y cefalotina(58.8%). El gen de resistencia más prevalente fue el *bla*_{TEM-1} en ambas especies. El ST 131 fue el más común en *E. coli* y el ST-15 en *K. pneumoniae*. La asociación más común fue de *E. coli* ST131, O25:H4 y *bla*_{CTX-M-15}. **Conclusiones:** La caracterización del genoma permitió identificar a *E. coli* como el patógeno más prevalente en las infecciones bacterianas pediátricas, resaltando *E. coli* ST131, *bla*_{CTX-M-15} y *K. pneumoniae* ST15, *bla*_{CTX-M-15} como los más prevalentes.

Palabras clave: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, secuenciamiento de nueva generación, resistencia antimicrobiana.

Abstract

Objective: Characterize the genome of isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella* sp. from blood and urine cultures of patients at a pediatric hospital in Lima, Peru, during the months of December 2018 to May 2019. **Method:** This is a descriptive and cross-sectional work, where bacterial isolates were collected from urine cultures and blood cultures of patients in a pediatric hospital. They were characterized by biochemical tests and antibiotic susceptibility and resistance mechanisms were evaluated by means of diffusion discs. Through next generation sequencing (NGS), using Illumina technology, the bacterial genomes were sequenced and analyzed by bioinformatics methods to determine their genetic variety and genes associated with antimicrobial resistance. **Results:** The antibiotics with the highest resistance for *E. coli* were amoxicillin (82.4%), nalidixic acid (76.5%), tetracycline and piperacillin (61.8%) and for *K. pneumoniae* amoxicillin (94.1%), tetracycline (64.7%), trimethoprim /sulfamethoxazole (64.7%) and cephalothin (58.8%). The most prevalent resistance gene was blaTEM-1 in both species. ST 131 was the most common in *E. coli* and ST-15 in *K. pneumoniae*. The most common association was *E. coli* ST131, O25:H4 and blaCTX-M-15. **Conclusions:** The characterization of the genome allowed us to identify *E. coli* as the most prevalent pathogen in pediatric bacterial infections, highlighting *E. coli* ST131, blaCTX-M-15 and *K. pneumoniae* ST15, blaCTX-M-15 as the most prevalent.

Keywords: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, next generation sequencing, antimicrobial resistance.

I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones nosocomiales resistentes a múltiples fármacos que no son tratadas con éxito, cobran al menos 700 000 vidas por año a nivel mundial y se estima que estarán asociadas con la muerte de 10 millones de personas por año para el 2050 (Strathdee et al., 2020). Los organismos causantes más frecuentes a nivel global son *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* (Azimi et al., 2019). Estos patógenos pueden causar una amplia gama de enfermedades clínicas, que van desde infecciones urinarias y abscesos intraabdominales hasta sepsis, siendo los niños uno de los grupos más vulnerables (Moghnia y Al-Sweih, 2022; van Aartsen et al., 2019). La situación cobra mayor relevancia debido a que estas bacterias presentan una alta capacidad para adquirir resistencia a los antibióticos, dificultando el tratamiento e incrementando una mayor probabilidad de propagación de las infecciones, así como un mayor riesgo de incrementar la morbilidad y la mortalidad en los pacientes (Murray et al., 2022; Sosa et al., 2022).

El aumento de la resistencia a los antibióticos muestra cifras alarmantes. Por ejemplo, en el 2019 se calculó que 1,3 millones de personas fallecieron en relación a este fenómeno (Ajulo y Awosile, 2024), convirtiéndose así en un problema de salud pública. Sumado a esto, la propagación en países en desarrollo es poco conocida, ya que los reportes de vigilancia son mínimos o escasos (Ayukekbong et al., 2017). En el Perú, la incidencia de infecciones bacterianas por bacterias resistentes ha mostrado un preocupante aumento, lo que resalta la necesidad de investigaciones exhaustivas que evalúen las características genéticas de estos aislados (Ruiz et al., 2021).

En los últimos años, la técnica de secuenciación del genoma completo se ha mostrado como una herramienta que ofrece una resolución y una potencia superiores de aporte para la epidemiología molecular (Moustafa et al., 2020; Jain et al., 2021). A nivel nacional, son muy pocos los estudios de genomas bacterianos con esta técnica (Quino et al., 2020). Por lo tanto,

la caracterización genómica de aislados bacterianos es fundamental para comprender mejor la diversidad genética de estos patógenos, detectando genes de resistencia, mutaciones, secuenciotipos, serotipos de patógenos clínicamente relevantes (Moghnia y Al-Sweih, 2022). En el contexto de un hospital pediátrico en Lima, Perú, donde la incidencia de infecciones bacterianas está en aumento, es crucial investigar estas características genómicas descritas en los aislados bacterianos, con ello contribuir, no solo a mejorar la atención clínica, sino también a desarrollar políticas de salud pública efectivas en la lucha contra las infecciones bacterianas.

1.1. Descripción y formulación del Problema

Las infecciones causadas por bacterias siguen siendo consideradas como una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial (Cisterna et al., 2001). La población pediátrica suele considerarse el grupo más vulnerable (Azimi et al., 2019). Dentro de las principales bacterias que causan estas infecciones están *Escherichia coli* (*E. coli*) y *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), ambos patógenos nosocomiales oportunistas que causan septicemia, bacteriemia, enteritis infantil, meningitis e infecciones del tracto urinario (Golsha et al., 2021). El Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC), considera a estos patógenos como una de las amenazas más urgentes, por la dificultad para el tratamiento ante el incremento extensivo de la resistencia a los antimicrobianos (Sosa Flores et al., 2022). En América latina, se ha evidenciado un aumento constante en resistencia a carbapenemasas de *K. pneumoniae* en la población pediátrica; en un estudio durante el 2011 al 2020 y observó mayor frecuencia a *K. pneumoniae* (56%) y *E. coli* (37%) como productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), con el gen blaCTX-M como la BLEE dominante entre los Enterobacterales (Yang et al., 2023). Además, hay pocos hospitales que disponen de la infraestructura o los recursos requeridos para implementar con éxito un programa de optimización en el uso de antimicrobianos (Fabre et al., 2022).

En el Perú, los reportes de aislados bacterianos de hospitales de distintas regiones, indicaron una elevada resistencia a la ampicilina y fluoroquinolonas mayores al 80% y 60% respectivamente en *E. coli* y a *K. pneumoniae* con resistencia a cefalosporina cercana al 50% (Sifuentes y Guerrero, 2021). También la frecuencia del gen blaTEM con un 31,4%, seguido por bla CTX-M (18,6%) y blaSHV (2,9%) (Marcos-Carbajal et al., 2021), y el estudio genómico de aislados bacterianos de pacientes pediátricos sigue siendo escaso.

Aunque la resistencia a los antimicrobianos ha sido ampliamente reconocida como un problema urgente, la incidencia de infecciones y la propagación de bacterias multidrogorresistentes sigue aumentando (Huemer et al., 2020). A nivel nacional, el uso de técnicas de secuenciamiento de genomas bacterianos está en reciente exploración y desarrollo (Quino et al., 2020). Los estudios de vigilancia de resistencia bacteriana en la población pediátrica siguen siendo escasos y en su mayoría son realizados mediante métodos considerados como convencionales en Biología Molecular, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y variaciones a esta, los cuales pueden darnos resultados de manera limitada, sólo para hallar algunos genes o elementos en estudio; mientras que la secuenciación del genoma completo podría ofrecer ventajas significativas para la detección, dando un panorama mucho más amplio del contenido del genoma del microorganismo, lo cual podría ayudarnos a encontrar nuevos genes, mutaciones, serotipos de relevancia en la salud pública pediátrica (Weinmaier et al., 2023).

Por todo lo expuesto, se plantea el presente proyecto de investigación, el cual busca caracterizar los genomas de aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella sp.* provenientes de cultivos de sangre y orina de pacientes pediátricos de Lima, Perú, durante los meses de diciembre 2018 a mayo 2019.

1.2. Antecedentes

En su informe global más reciente, la Organización Mundial de la Salud (OMS) revela que se reportaron elevados niveles de resistencia (por encima del 50%) en bacterias frecuentes de septicemia en hospitales, dentro de ellas *Klebsiella pneumoniae*, con un 8% de resistencia a carbapenémicos (antibióticos de último recurso) y más del 20% de las cepas aisladas de *Escherichia coli* fueron consideradas resistentes a fármacos tanto de primera como de segunda línea según indica la World Health Organization (WHO, 2022). Asimismo, a nivel mundial, se han realizado múltiples estudios y reportes de caracterización de genomas mediante secuenciamiento de genoma completo de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. Dentro de estos se pueden destacar los siguientes:

Moghnia y Al-Sweih (2022), analizaron la secuencia del genoma completo de cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* resistentes a múltiples fármacos en Kuwait, en donde llevaron a cabo una investigación exhaustiva de las cepas resistentes a múltiples fármacos y detectaron genes betalactámicos, incluyendo carbapenémicos y genes de β -lactamasa de espectro extendido como (bla OXA-1/-48 , bla KPC-2/-29 , bla CMY-4/-6 , bla SHV-11/-12 , bla TEM-1 , bla CTX-M-15 , bla OKP-B , bla ACT y bla EC). Además, resistencia a quinolonas (oqxA/oqxB , aac(6')-Ib-cr5 , gyrA_D87N , gyrA_S83F , gyrA_S83L , parC_S80I , parE_S458A , parE_I355T , parC_S80I y qnrB1). Además de los genes de enzimas modificadoras de aminoglucósidos (aph(6)-Id , aph(3'')-Ib , aac(3)-IIa , aac(6')-Ib , aadA1 , aadA2 y aadA5), detectaron genes de resistencia a trimetoprima-sulfametoxazol (dfrA12/A14/A17 y sul1/sul2), tetraciclina (tetA y tetB), fosfomicina (fosA y uhpT_E350Q), también otros genes que confieren cloranfenicol (floR , catA2 y bomba de eflujo cmIA5), resistencia a macrólidos (mph(A) y erm(B)) (Moghnia y Al-Sweih, 2022).

Van Aartsen et al. (2019) en su estudio de la Epidemiología de la colonización gastrointestinal pediátrica por cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* resistentes a

cefalosporinas de espectro extendido en el noroeste de Camboya, detectaron la resistencia a las cefalosporinas de espectro extendido en muestras de heces. Con el análisis de secuenciamiento de genoma completo (Illumina) determinaron que 82/148 (55%) de los niños/adolescentes fueron colonizados por *K. pneumoniae*; 12/148 (8%) fueron colonizados con ambas especies. Los mecanismos de resistencia más comunes fueron las variantes de la subfamilia bla CTX-M 1 y 9., también bla CTX-M-15, CTX-M- 55 y CTX-M- 27. Determinaron también que la hospitalización y los parásitos intestinales son factores de riesgo independientes. Los contextos genéticos de bla CTX-M son altamente mosaicos, lo que coincide con un intercambio horizontal rápido. La integración cromosómica de bla CTX-M fue común en *E. coli* y puede dar lugar a una propagación estable de estos patógenos asociados a la comunidad (van Aartsen et al., 2019).

Lipworth et al. (2022), en su investigación de la epidemiología molecular y fenotipo de resistencia a los antimicrobianos en infecciones del torrente sanguíneo pediátricas causadas por bacterias Gram negativas en Oxford, Reino Unido, reportan la carga de infección encontrada predominantemente en neonatos y siendo la mayoría de los casos causados por *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. no se encontró evidencia en el entorno de que la proporción de aislamientos resistentes a los antimicrobianos esté aumentando en la población pediátrica, aunque identificaron el aumento en la resistencia a la gentamicina. La estructura poblacional de los aislamientos *E. coli* en neonatos y niños refleja la de los adultos con un predominio de ST 131, 95, 73, 69 y las mismas proporciones de serotipos de antígeno O, los más prevalentes fueron O6, O1, O2, O16 y O25. La portación de genes que confieren resistencia a la ampicilina fue común (49% de aislados que portaban 82 alelos), siendo bla TEM-1B (45%) el alelo más prevalente. El 14% portaban un gen de resistencia a la ceftriaxona (principalmente genes BLEE, a saber, bla CTX-M-15 (n = 9), bla SHV-102 (n = 5) y bla CTX-M-14 (n = 3)). Mientras que el ST-131 fue el ST dominante portador del gen BLEE (44%). En la mayoría de los casos

del entorno estudiado, no hubo evidencia de transmisión/adquisición de fuente puntual y demostraron la utilidad de la secuenciación del genoma completo para refutar un brote previamente sospechado (Lipworth et al., 2022).

Birgy et al. (2020) en su investigación sobre diversidad y tendencias en la estructura poblacional de enterobacterias productoras de BLEE en infecciones urinarias febriles en niños en Francia de 2014 a 2017, encontraron a *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae* en el 86,9% y 11,2% de los casos, respectivamente. Varias ST predominantes entre *E. coli* como ST-131, ST-38, ST-69, ST-73, ST-95, ST-405, ST-12 y ST-1193, mientras que ninguna ST emergió en *K. pneumoniae*. *E. coli* ST-131, ST-38 y ST-1193 aumentaron durante el período de estudio, con una heterogeneidad en la prevalencia de papGII (64,5%, 35% y 20% respectivamente). La mayoría de los aislados albergaban el tipo CTX-M (97%) con un predominio de blaCTX-M-15. blaCTX-M-27, una variante emergente en *E. coli*, se encuentra en varias ST. La plataforma Multilocus sequence typing (MLST) permitió la discriminación de clústeres dentro de las principales ST (Birgy et al., 2020).

Yang et al. (2023) compararon la susceptibilidad a los antimicrobianos entre aislamientos de microorganismos gramnegativos en pacientes pediátricos en Asia, África, Medio Oriente y América Latina entre los periodos 2016 a 2020 y 2011 a 2015, a partir de los resultados del estudio de vigilancia ATLAS, reportando a la Ceftazidima-avibactam, amikacina, colistina y meropenem como principalmente activos (78,6%–100,0%) contra *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. Se observó que, para estas especies, las tasas de resistencia a carbapenémicos tuvieron un aumento constante en todas las regiones y a lo largo del tiempo (*E. coli*, 0-5,6 %; *K. pneumoniae*; 0,3-5,9 %) y las resistencias difíciles de tratar fueron mucho más bajas en comparación con BLEE. Las *K. pneumoniae* productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) fueron más frecuentes (32,6 %–55,6 %) que las *E. coli* productoras de BLEE (25,3 %–37,1 %). CTX-M fue la BLEE dominante entre los

Enterobacterales. Se identificaron especies de Enterobacterales NDM-positivas en todas las regiones. La tasa de BLEE *K. pneumoniae* se mantuvo en Latino américa y África-Medio Oriente, mientras que disminuyó significativamente en Asia (50,0% a 32,6%) con el tiempo (Yang et al., 2023)

A nivel nacional, Gonzales et al. (2019) en el estudio de aislados clínicos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* del Instituto Nacional de Salud del Niño-Breña, ubicado en Lima, Perú, analizaron enterobacterias productoras de BLEE del INSN-Breña, en donde analizaron en total 724 aislados de *Escherichia coli* y 181 de *Klebsiella pneumoniae*, no repetidos, de procedencia de pacientes hospitalizados y de la comunidad. Reportaron que el 31% de los aislados de ambas especies fueron productoras de BLEE; 28,6% de *E. coli* y 40,9% de *K. pneumoniae*. Detectaron el 94.4% de resistencia a cefotaxima para *E. coli* y el 100% para *K. pneumoniae*; asimismo, la presencia del gen blaCTX-M en 91.1% de los aislados productores de BLEE, siendo así este gen el predominante en la población pediátrica estudiada (Gonzales et al., 2019).

Ramírez (2019) evaluó 30 urocultivos provenientes del Hospital Docente Madre Niño San Bartolomé, en donde aislaron Enterobacterias productoras de BLEE y reportaron las bacterias más frecuentes: 24 (80%) de *E. coli*, y *K. pneumoniae* y *P. mirabilis* ambos con 6.7%. De las cuales, el 95.8% de *E. coli* (95.8%) presentaron el gen blaCTX-M, el 87.5% presentaron el gen blaSHV, 83.3 %presentaron el gen blaTEM, mientras que solo el 16.7% presentaron el gen blaOXA. Para *K. pneumoniae* el total de los aislados presentaron los tres genes en estudio y el 50% de cepas presentaron el gen blaOXA. (Ramírez, 2019).

Hilarión (2020) en su investigación sobre la susceptibilidad antimicrobiana de cepas *Escherichia coli* O157:H7 y *Escherichia coli* enteropatógena aisladas en niños menores de cinco años con diarrea de un hospital pediátrico en Lima, Perú, identificó un 14% de *E. coli*

enteropatógena (EPEC) y ninguna *E. coli* O157:H7. En el estudio de la susceptibilidad antimicrobiana de las cepas EPEC, se destacó una resistencia del 88% a la ampicilina, 50% de sulfametoxazol/trimetoprim y 50% a ácido nalidíxico. En contraste, se observó una sensibilidad del 100% a imipenem y 94% a los antibióticos ceftazidima, ciprofloxacina, aztreonam, gentamicina y amikacina (Hilarión, 2020).

Fajardo et al. (2023), por su parte, evaluaron las características moleculares de aislados de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* resistentes a antibióticos, obtenidos de muestras de orina de pacientes con infección del trato urinario en Lima y Callao, Perú. Se reportó que el 100% de las bacterias aisladas en los tres hospitales eran multidrogorresistentes (105 de *E. coli* y 13 de *K. pneumoniae*). Se observó la coexistencia de genes BLEE (blaTEM, blaCTX-M, blaSHV) en el 32.20% de los aislamientos (28.57% para *E. coli* y 61.53% para *K. pneumoniae*), con una coexistencia de dos genes en el 12.71% y de tres genes en el 21.18%. Además, el gen blaTEM fue el más común entre los aislamientos, representando el 45.76% (Fajardo et al., 2023).

Caruajulca (2024) en su investigación de tesis sobre la resistencia antimicrobiana de gérmenes causantes de infecciones del tracto urinario en pacientes pediátricos en el Hospital II EsSalud Cajamarca, analizó 61 muestras de urocultivo positivo y antibiograma, en donde se destaca la resistencia de *Escherichia coli*, la cual fue de 80%, 72% y 66% para ampicilina, trimetoprima/Sulfametoxazol y ácido nalidíxico, respectivamente. Los antibióticos más eficaces contra *Escherichia coli* fueron: imipenem, con 0% de resistencia, piperacilina/tazobactam, con 2%, amikacina y meropenem, con 4%, nitrofurantoína, con 5%, amoxicilina/ácido clavulánico, con 7%, y tobramicina y fosfomicina, con 11%. El patógeno más frecuente causante de ITU fue *E. coli* con frecuencia de 90 %, seguido por *K. pneumoniae* con 7% y *P. mirabilis* con 4%. El sexo femenino representó el 85% de los gérmenes causantes de las infecciones urinarias. La infección por *E. coli* y *K. pneumoniae* se presentó con mayor

frecuencia en las niñas, mientras que *Proteus mirabilis* fue más frecuente en los niños. Los uropatógenos se aislaron con mayor frecuencia en los preescolares, seguido de lactantes mayores y lactantes menores, en los 3 grupos el principal microorganismo aislado fue *E. coli* (Caruajulca, 2024).

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Caracterizar el genoma de aislados de *Escherichia coli* y *Klebsiella sp.* provenientes de cultivos de sangre y orina de pacientes de un hospital pediátrico de Lima, Perú, durante los meses de diciembre 2018 a mayo 2019.

1.3.2. Objetivos específicos

- Caracterizar fenotípicamente los aislados de *Escherichia coli* y *Klebsiella sp.* provenientes de cultivos de sangre y orina de pacientes pediátricos.
- Determinar los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana de los aislados de *Escherichia coli* y *Klebsiella sp.* provenientes de cultivos de sangre y orina de pacientes pediátricos.
- Determinar la variabilidad genética y los genes de resistencia antimicrobiana presentes en los aislados de *Escherichia coli* y *Klebsiella sp.* provenientes de cultivos de sangre y orina de pacientes de un hospital pediátrico de Lima, Perú, mediante el uso de la técnica de Secuenciamiento del Genoma Completo (WGS).

1.4. Justificación

Durante los últimos años, en un reporte mundial estimó aproximadamente 220 480 muertes a nivel mundial debido a estos patógenos resistentes a antimicrobianos en niños menores de cinco años (Yang et al., 2023). Además, no sólo se ha visto un aumento significativo de casos de infecciones y septicemias reportadas por *E. coli* y *Klebsiella*

pneumoniae en la población pediátrica, sino que se ha evidenciado además un incremento en la prevalencia de mecanismos de resistencia a los antibióticos y mutaciones en los genes (OMS, 2020; Yang et al., 2023). En diferentes regiones de Perú, los niveles de resistencia a betalactámicos como la ampicilina, bordea o supera el 90% y a betalactámicos más modernos como las cefalosporinas de tercera y cuarta generación, se sitúan alrededor del 50% (Ruiz et al., 2021).

Por otra parte, la acumulación continua de múltiples mutaciones conduce a la posible aparición de genomas resistentes a los antimicrobianos. Por ello, la secuenciación del genoma completo (WGS) de microorganismos se ha convertido en un enfoque poderoso y una herramienta muy prometedora para detectar la resistencia a los antibióticos y evaluar el número de mutaciones y funciones de los genes mutados, también el desarrollo de nuevos antibióticos, el control de la resistencia a los antimicrobianos para mejorar los diagnósticos y la microbiología en la salud pública (Jain et al., 2021)

Caracterizar genomas de *E. coli* y *Klebsiella sp.* mediante la técnica del Secuenciamiento del Genoma Completo (WGS), nos permite identificar la existencia y adquisición de nuevos genes de resistencia, que aportan a la diversidad fenotípica del mismo; conocer los serotipos y secuenciotipos principales proporcionará información relevante para conocer mejor la epidemiología, variabilidad y relaciones genéticas de los aislados; y así, con toda esta información poder mejorar las opciones terapéuticas para combatir infecciones bacterianas mediante terapias más acertadas (Quino et al., 2020).

Además, los resultados de esta investigación, podrán aportar información aún no estudiada en nuestro país en la población pediátrica, contribuyendo con esto al sistema nacional de vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos, para contribuir en la formulación de

estrategias preventivas y el control de infecciones hospitalarias, con ello crear planes de contingencia para abordar mejor la problemática de la multidrogorresistencia en nuestro país.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación

2.1.1. *Escherichia coli*

Es un microorganismo de la familia bacteriana Enterobacteriaceae y es el comensal más común en los tractos gastrointestinales de humanos y animales de sangre caliente, además de ser considerado como uno de los patógenos más importantes (Allocati et al., 2013). Es un comensal frecuente del tracto gastrointestinal, que coexiste en una relación mutuamente beneficiosa con sus huéspedes y raramente provoca enfermedades (Vila et al., 2016). Forma parte de la microbiota intestinal; sin embargo, existen cepas consideradas patógenas que se dividen en dos grupos: *E. coli* diarrogénicas o patógenas intestinales (DEC o IPEC) y *E. coli* patógenas extraintestinales (exPEC)(SENASA, 2022).

2.1.2. Género *Klebsiella*.

El género *Klebsiella* comprende bacterias gramnegativas, encapsuladas, inmóviles, con forma de bastón y oxidasa negativa (Dong et al., 2022). Existe una gran variedad de especies de *Klebsiella*, que frecuentemente causan infecciones nosocomiales humanas, entre las que se encuentra el complejo de especies de *Klebsiella pneumoniae* (KpSC) y diversas especies genéticamente más distantes, en donde se incluyen a: *K. indica*, *K. terrigena*, *K. spallanzanii*, *K. huaxiensis*, *K. oxytoca*, *K. grimontii*, *K. pasteurii* y *K. michiganensis*, que comparten un promedio de solo el 90% de identidad de nucleótidos con KpSC (Podschun & Ullmann, 1998).

Dentro del complejo KpSC, están incluidas: *K. pneumoniae* (Kp1), *K. subsp. quasipneumoniae* (Kp2), *K. variicola subsp. variicola* (Kp3), *K. quasipneumoniae subsp. similipneumoniae* (Kp4), *K. variicola subsp. tropica* (Kp5), *K. quasivariicola* (Kp6) y *K. africana* (Kp7) (Dong et al., 2022)

Las más comunes en el entorno hospitalario son las *K. pneumoniae*, estas son capaces de causar infecciones graves en personas sanas; se consideran hipervirulentas en contraste con las cepas clásicas. Esto se debe a su notable capacidad para infectar tanto a individuos sanos como a aquellos inmunodeprimidos, así como su mayor propensión a generar infecciones invasivas. Entre ellas, destaca *Klebsiella pneumoniae* hipervirulenta tipo de secuencia ST-23, que porta genes de resistencia a los antibióticos carbapenémicos (OMS, 2024).

2.1.3. Antibióticos

Los antibióticos son compuestos químicos que pueden ser generados de manera natural (por diferentes tipos de microorganismos, como bacterias y hongos) o pueden ser obtenidos mediante síntesis química, que inhiben el crecimiento de otros microorganismos y provocan su eliminación (De la Fuente-Salcido et al., 2015). En los últimos años, el término se ha expandido para abarcar también sustancias sintéticas, como las sulfonamidas y las quinolonas, que también tienen actividad antibacteriana (Cué y Morejón, 1998)

2.1.3.1. Familias de antibióticos. Desde la aparición de los primeros antibióticos en la década del cuarenta, surgieron varias familias y son actualmente el principal grupo de medicamentos para el tratamiento de numerosas infecciones tanto comunitarias como nosocomiales. Según Maguiña-Vargas et al., las principales familias de antibióticos son:

a. *Penicilinas.* Penicilina , penicilina benzatínica, penicilina procaínica, penicilina clemizol, ampicilina, amoxicilina, amoxicilina-ácido clavulánico, piperacilina, ticarcilina, mezlocilina, entre otras.

b. *Aminoglucósidos:* Estreptomicina, amikacina, netilmicina, gentamicina, kanamicina, tobramicina, entre otros.

c. Cefalosporinas. De primera generación (cefadroxil, cefadrina, cefalexina), de segunda (cefuroxima, cefaclor, cefoxitina) y las de tercera (ceftazidima, cefotaxima, ceftriaxona, cefixima, cefoperazona).

d. Macrólidos. Eritromicina, roxitromicina, claritromicina, azitromicina.

e. Lincosinamidas. Lincomicina, clindamicina.

f. Tetraciclinas. Oxitetraciclina, doxiciclina, minociclina.

g. Sulfonamidas. Cotrimoxazol, trimetoprim, dapsona.

h. Carbapenemes. Imipenem, meropenem.

i. Quinolonas. Ácido nalidíxico, ácido pipemídico, norfloxacin, lomefloxacin, ciprofloxacina, ofloxacina, pefloxacina.

j. Glicopéptidos. Vancomicina, teicoplanina.

k. Monobactam. Aztreonam.

l. Otras. Cloranfenicol, rifampicina, macrodantina, furazolidona, fosfomicina, colistina (Maguiña-Vargas et al., 2006)..

2.1.3.2. Mecanismos de acción de los antibióticos. La mayor parte de los antibióticos prescritos para el tratamiento de las infecciones bacterianas están clasificados según el principal mecanismo de acción que presenten. Se conocen cuatro principales mecanismos de acción: 1) inhibición de la síntesis de la pared celular, 2) inhibición de la síntesis proteica, 3) inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos e 4) inhibición de una ruta metabólica (Gamboa et al., 2022)

A. Interferencia en la síntesis de la pared celular. Este mecanismo consiste en inhibir la pared de la célula por interferencias con enzimas que se requieren para la formación de la capa de peptidoglicano de la bacteria. Dentro de este grupo de compuestos están incluidos, los antibióticos betalactámicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapenems, monobactamos) y glucopéptidos (vancomicina y teicoplanina) (Rubio, 2016).

B. Inhibición de la síntesis proteica. Este mecanismo ocurre en los ribosomas. La unión a los ribosomas hace que se detenga el proceso de la transducción, inhibiendo de esta manera la síntesis de proteínas. Esto puede suceder tanto con la subunidad ribosómica 30S (aminoglucósidos y tetraciclinas) como con la sub unidad 50S (macrólidos, cloranfenicol, lincosamidas, estreptograminas y oxazolidonas). Este mecanismo de acción utilizado por aminoglucósidos, tetraciclinas, macrólidos, lincosamidas, cloranfenicol, estreptograminas y oxazolidinonas (Rubio, 2016).

C. Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos. Los antibióticos pueden inhibir algún componente esencial de la síntesis de los ácidos nucleicos. Por ejemplo, el grupo de antibióticos quinolonas inhiben la acción de las topoisomerasas tipo II y IV, las cuales se encargan del control del súper enrollamiento y desenrollamiento del ADN. Por otra parte, la rifampicina inhibe el ARN (ácido ribonucleico) polimerasa, evitando así la formación de un nuevo ARN (Rubio, 2016).

D. Inhibición de una ruta metabólica. Este mecanismo afecta a una ruta metabólica, así, por ejemplo, la combinación de trimetoprim y sulfametoxazol, muy usada en la práctica clínica, actúa bloqueando dos etapas dentro de la ruta metabólica que conducen a la síntesis del ácido fólico, y como consecuencia se da la inhibición de la síntesis de ADN (Rubio, 2016).

2.1.4. Susceptibilidad a los antimicrobianos

La susceptibilidad microbiana es considerada cuando una especie bacteriana puede ser tratada de manera efectiva con las dosis prescritas del antimicrobiano indicado para el patógeno y el sitio donde se da la infección (Hilarión, 2020)

2.1.5. Resistencia a los antibióticos

Se considera resistencia a los antibióticos a la capacidad de algunos microorganismos para tolerar la acción de estos, a niveles clínicamente importantes (OMS, 2020). Esta puede ser

natural o adquirida; la primera se da porque hay bacterias que de forma innata tienen mecanismos naturales que le confieren resistencia y adquirida, es cuando la bacteria consigue cambios en el genoma bacteriano en el transcurso del tiempo (Baran et al., 2023)

2.1.5.1. Tipos de resistencia. La resistencia a los antimicrobianos (RAM) puede clasificarse en intrínseca, adaptativa o adquirida.

A. Resistencia intrínseca. es la capacidad de resistencia a la acción del antibiótico como resultado de las características estructurales o funcionales propias del microorganismo, como la barrera de permeabilidad de la membrana externa y la actividad de las bombas de expulsión de medicamentos (Blair et al., 2015).

B. Resistencia adaptativa. es la capacidad de un organismo para ajustarse y sobrevivir a diversas condiciones estresantes, lo que logra al modificar rápidamente su transcriptoma en respuesta a señales del entorno. Estas adaptaciones pueden ayudar a los organismos a enfrentar limitaciones nutricionales y soportar el estrés causado por antibióticos, entre otras situaciones. (Arzanlou et al., 2017).

C. Resistencia adquirida. La resistencia adquirida es producida cuando el organismo se vuelve resistente mediante la adquisición de genes o como resultado de mutaciones. Un ejemplo de adquirido es la resistencia es la propagación de plásmidos que codifican genes de β -lactamasa, que permiten al organismo adquirir resistencia a antibióticos β -lactámicos (Arzanlou et al., 2017).

2.1.6. Mecanismos de resistencia a los antibióticos

Las bacterias tienen la capacidad de adquirir resistencia a los antibióticos mediante mecanismos moleculares que podrían resumirse en cuatro categorías:

2.1.6.1. Modificación enzimática del antibiótico. En este mecanismo, las bacterias producen diversas enzimas a un sitio específico de los antibióticos para modificarlo

químicamente e inactiva los agentes antimicrobianos, haciéndolo incapaz de unirse al sitio objetivo, en consecuencia, pierda su funcionalidad (Abushaheen et al., 2020). Existen tres principales enzimas que actúan en la inactivación de antibióticos: las β -lactamasas, las enzimas modificadoras de aminoglucósidos y las acetiltransferasas de cloranfenicol (AAC) (Kapoor et al., 2017).

2.1.6.2. Bombas de salida. Este mecanismo facilita la salida activa de medicamentos desde el interior de las células bacterianas con el fin de evitar la acumulación intracelular de compuestos tóxicos. Las bacterias resistentes a los medicamentos poseen bombas de eflujo de medicamentos impulsadas por energía que expulsan los agentes antibacterianos, reduciendo así sus concentraciones intracelulares de una manera que no involucra su alteración o degradación (Baran et al., 2023).

2.1.6.3. Cambios en la permeabilidad de la membrana. Este mecanismo puede ser usado para generar cambios en la bicapa lipídica. Alterando la permeabilidad de la membrana, principalmente, por cambios en las porinas, estas son proteínas que constituyen canales contenidos de agua en la membrana externa, los cuales regulan el ingreso de algunos elementos, por ejemplo, los antibióticos. Estos cambios realizados en su estructura pueden dar como consecuencia a el bloqueo del paso estos agentes al espacio periplásmico en la membrana (Baran et al., 2023).

2.1.6.4. Alteraciones del sitio activo. Mediante este mecanismo, las bacterias tienen la capacidad de alterar el sitio exacto en el que el antibiótico se une a la bacteria interrumpiendo de este modo las funciones de esta. Este mecanismo es utilizado principalmente por bacterias de tipo Gram positivas, estas generan cambios en la estructura de los sitios de acción de antibióticos betalactámicos, esto ocurre en las proteínas que se unen a penicilinas (Tafur et al., 2008).

2.1.7. Clasificación de betalactamasas

2.1.7.1. Betalactamasas tipo AmpC. Estas enzimas han sido encontradas codificadas por cromosomas en bacterias Gram negativas. Las β -lactamasas tipo AmpC hidrolizan por lo general a las cefalosporinas que presentan un reducido espectro, cefalosporinas de tercera generación, por ejemplo, aztreonam e inhibidores de β -lactamasas (Mina Ortiz et al., 2021).

2.1.7.2. Betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Este tipo β -lactamasas se han reportado en numerosas especies de bacterias de tipo Gram negativas, como *Klebsiella spp.* Las bacterias *Escherichia coli*, son los más frecuentemente implicados. Estas enzimas poseen la capacidad de hidrolizar a las cefalosporinas de tercera generación conocidas como oximiino- β -cefalosporinas, como cefotaxima, ceftriaxona y ceftazidima. Además, inactivan las cefalosporinas de primera y segunda generación y el aztreonam, aunque las cefamicinas y los carbapenémicos no son sus objetivos (Baran et al., 2023). La figura 1 muestra ls tipos de BLEE, su país de origen y las especies en las que fueron detectadas.

Tabla 1

Diferentes grupos de β -lactamasas de espectro extendido

BLEE	β-lactamasa relacionada	País de origen	Especies en las que se detectaron inicialmente
TEM	TEM-1, TEM-2	Francia	<i>Enterobacteriaceae</i>
SHV	SHV-1/LEN	Alemania	<i>P. aeruginosa</i> /BGNNF
CTX-M	KLUA <i>Kluyvera</i>	Alemania/Argentina	<i>E. coli</i> , <i>Salmonella spp.</i>
OXA	OXA-10	Turquía / Francia	<i>P. aeruginosa</i>
PER		Francia	<i>P. aeruginosa</i>
VEB	PER	Vietnam/Tailandia	<i>E. coli</i>
TLA	CME-1	Méjico	<i>E. coli</i>
GES/IBC		Guayana/Sudáfrica	<i>K. pneumoniae</i> / <i>P. aeruginosa</i>
BES	<i>Y. enterocolitica</i>	Brasil	<i>S. marcescens</i>
SFO	AmpA <i>S. fonticola</i>	Japón	<i>E. cloacae</i>

Tomado de Oliver y Cantón, 2003.

Los secuenciotipos (ST) son clones que se diseminan rápidamente, contribuyendo de forma importante en el incremento de la resistencia a los antimicrobianos (Morales, 2020). Los

más comunes en *E. coli* son el ST131, ST11, ST69 y en *K. pneumoniae*: ST11, ST340 , ST258 y ST512(Lipworth et al., 2022; Quino et al., 2020; Vera-Leiva et al., 2017). Asociados a estos pueden hallarse los serotipos, cuya distribución entre los aislamientos invasivos pueden cambiar con el tiempo y pueden diferir según la edad, la fuente de infección y el entorno geográfico y clínico, uno de los más conocidos es el serotipo *E. coli* O157:H7, el cual es productor de toxina Shiga, destacado en importancia por su impacto en la salud pública, a su vez, también están descritos otros serotipos frecuentemente implicados en brotes alimentarios y casos esporádicos (OMS, 2018).

2.1.7.3. Carbapenemasas. Este grupo de enzimas presenta mayor espectro, actividad y resistencia a los antibióticos, hidrolizan a los carbapenems. Están presentes como estructuras genéticas móviles o codificadas en el cromosoma bacteriano. Existe una clasificación que consta de dos grupos: Carbapenemasas de serina (en la clasificación realizada por Ambler pertenecen a las clases A y D) y las metalo- β -lactamasas, MBL (Ambler, clase B), estas están denominadas así porque presentan dependencia a metales para su funcionamiento. La resistencia a los carbapenems implica que exista resistencia a otros betalactámicos. Para identificar fenotípicamente el tipo MBL, es común observar la resistencia a todos los β -lactámicos, excepto a aztreonam. Para las carbapenemasas de serina, no existe un fenotipo característico (Quiñones et al., 2020)

III. MÉTODO

3.1. Tipo de investigación

El estudio es de tipo descriptivo de corte transversal.

3.2. Ámbito temporal y espacial

Se emplearon muestras de aislados bacterianos de *Escherichia coli* y *Klebsiella sp.* colectados durante los meses de diciembre 2018 a mayo 2019 del laboratorio de patología de un hospital pediátrico en Lima, Perú.

3.3. Variables

Variable	Definición Operacional	Tipo	Indicador	Categoría	Criterio de Medición de Categorías
Procedencia de aislados	Muestra de procedencia de la bacteria aisladas	Cualitativa	Origen de muestras	Sangre	Presencia/ Ausencia
				Orina	
Morfología de las colonias	Visualización del aspecto de las colonias propias de cada especie en el CHROMagar	Cualitativa	Colonias Rosadas	<i>E. coli</i>	Presencia/ Ausencia
			Colonias verde Metálicas	<i>Klebsiella sp.</i>	
Identificación bioquímica de los aislados	Confirmación de la especie mediante la	Cualitativa	Cambios colorimétricos	<i>E. coli</i>	Fermentación de azúcares / No
	observación del cambio de color en la prueba bioquímica (citrato)			<i>Klebsiella sp.</i>	fermentación de azúcares
	Confirmación de la especie mediante la observación del cambio de color en la prueba bioquímica (TSI)	Cualitativa	Cambios colorimétricos	<i>E. coli</i>	Fermentación de azúcares / No
				<i>Klebsiella sp.</i>	fermentación de azúcares
	Confirmación de la especie mediante la observación del cambio de color en la prueba bioquímica (MIO)	Cualitativa	Cambios colorimétricos	<i>E. coli</i>	Fermentación de azúcares / No
				<i>Klebsiella sp.</i>	fermentación de azúcares

Detección fenotípica de resistencia antimicrobiana mediante prueba de difusión en disco	Interpretación de la medida del halo según normas del CLSI.	Cualitativa	Diámetro de los halos de inhibición de crecimiento	Sensible	Medición de halos
				Intermedio	
				Resistente	
Multidrogoresistencia	Consideración de una bacteria resistente a al menos un antibiótico en 3 o más familias.	Cualitativa	Fenotipo de resistencia	Multidrogo-resistentes	Si/No
				No multidrogoresistentes	Si/No
Presencia de genes de resistencia	Búsqueda de genes causantes de la resistencia antibiótica en el genoma secuenciado.	Cualitativa	Genes de resistencia	Presencia	Si / No
				Ausencia	Si / No

Fuente: Elaboración propia

3.4. Población y muestra

Se emplearon 51 aislados clínicos de *Escherichia coli* y *Klebsiella sp.* aisladas de cultivos de sangre y orina de pacientes de un hospital pediátrico. Los aislados fueron previamente identificados por el laboratorio del hospital pediátrico de Lima, Perú y cumplieron con los criterios de selección durante el periodo de diciembre 2018 a mayo del 2019.

Se utilizaron un total de 51 aislados colectados durante un periodo de seis meses (diciembre 2018 – mayo 2019), estos aislados correspondieron al proyecto titulado “CARACTERIZACIÓN Y COMPARACIÓN DE ENTEROBACTERIAS RESISTENTES A ANTIBIÓTICOS AISLADAS DE AGUAS RESIDUALES, HEMOCULTIVOS Y UROCULTIVOS DEL INSN-SB”. En este sentido, no hubo necesidad de realizar un cálculo de tamaño de muestra, ya que el enfoque del presente estudio es caracterizar todos los aislamientos que cumplan con los criterios de selección durante el período establecido.

3.5. Instrumentos

Se usó la herramienta Microsoft Excel (Versión 2406) como instrumento para el registro de datos generados durante la ejecución del proyecto.

3.6. Procedimientos

3.6.1. Estudios Microbiológicos

3.6.1.1. Identificación. Se reactivaron los aislados colectados provenientes del proyecto titulado “CARACTERIZACIÓN Y COMPARACIÓN DE ENTEROBACTERIAS RESISTENTES A ANTIBIÓTICOS AISLADAS DE AGUAS RESIDUALES, HEMOCULTIVOS Y UROCULTIVOS DEL INSN-SB”, los cuales fueron sembrados en CHROMagar Orientation Media (CHROMagar Microbiology, Paris). Las colonias en sospecha fueron confirmadas mediante el uso de pruebas bioquímicas de Citrato, TSI y MIO (Becton Dickinson).

3.6.1.2. Determinación de la susceptibilidad antimicrobiana. Para la determinación de la susceptibilidad antimicrobiana se utilizó la prueba de Kirby Bauer de difusión de disco en agar. Se preparó una suspensión bacteriana en solución salina al 0.9%, la turbidez medida fue de 0.5 McFarland a partir de un cultivo bacteriano fresco. Se inoculó la suspensión de manera homogénea embebiendo un hisopo estéril y diseminando de manera homogénea sobre la superficie de una placa con Agar Mueller-Hinton (Becton Dickinson), sobre este medio se colocaron los discos de antimicrobianos con las concentraciones recomendadas según los estándares establecidos por el de CLSI (2024).

Se utilizó Cefalotina (30µg), Ácido nalidíxico (30µg), Tetraciclina (30µg), Meropenem (10µg), Ciprofloxacino (5µg), Cloranfenicol (30µg), Sulfatrimetoprim (1.25/23.5µg), Azitromicina (15µg), Gentamicina (10µg) y Amoxicilina (25µg).

A. Detección de las betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Para la identificación fenotípica se utilizó el método de Jarlier con Cefotaxime (30µg), Aztreonam (30µg), Ceftazidima (30µg), Cefepime (30µg) y Amoxicilina y ácido clavulánico (20/10µg),

se tomó en cuenta una distancia de 2.5mm desde el centro de los antibióticos (Jarlier et al., 1998)

B. Detección de betalactamasas tipo AmpC. Para determinar la producción de enzimas AmpC se emplearon los discos de ceftriaxona (30µg), ceftazidima(30µg) y un inductor fuerte como el cefoxitina (30µg) con una distancia de 27 mm. Adicionalmente, se colocó los discos de cefotaxima (30µg) y, cloxacilina (500µg) como inhibidor entre el disco de ceftazidima (30µg) con una distancia de 25 mm desde el centro de los antibióticos (Calvo, 2011).

C. Detección de carbapenemasas. Para determinar la producción de carbapenemasas se emplearon los discos de imipenem (10µg) y meropenem (10µg) entre el disco de EDTA (µg) con un disco de ácido fenil borónico (AFB) con una distancia de 20 mm (Payne et al., 1994)

Cabe mencionar, que se tomó en cuenta el reporte de datos de consumo de antibióticos del Instituto Nacional de Salud del Niño - San Borja (INSN-SB) del año 2018 (Anexos A y B), para poder comparar y comprender mejor los resultados obtenidos en el presente estudio.

3.6.1.3. Criopreservación. Los aislados fueron criopreservados en caldo tripticasa de soya (TSB, Becton Dickinson) con glicerol al 15% y almacenados a -80°C.

3.6.1.4. Extracción de DNA. Se inocularon los aislados en 5 ml de caldo tripticasa de soya (TSB) y se incubaron a 37°C por 6 horas en agitador (shaker) (New Brunswick Model G25 incubator). La extracción de ADN de todos los aislados se realizaron mediante el uso del kit comercial GeneJET Genomic DNA purification kit (Thermo Scientific, Waltham, MA) siguiendo las indicaciones del protocolo para bacterias gram-negativa.

3.6.2. Estudios genómicos

3.6.2.1.Secuenciamiento de genomas. Se prepararon librerías de secuenciamiento utilizando el kit Nextera XT (Illumina, San Diego), siguiendo las indicaciones del fabricante. Se secuenciaron utilizando corridas de 2 x 300pb en el instrumento de secuenciamiento MiSeq

(Illumina), ubicado en la Unidad de Epidemiología Molecular de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH).

3.6.2.2. Análisis bioinformático. Las secuencias genómicas fueron procesadas y analizadas en la plataforma Galaxy versión 24.1.2.dev0. El manejo y ensamblaje de los ‘reads’ fue realizado mediante el uso de Trimmomatic (v0.39), para el ensamblaje se utilizó SPAdes (v3.13.1), para el análisis de marcadores genéticos, MLST (v2.16.2) y, Abricate (v0.8.13) para la búsqueda de genes de resistencia y secuenciotipos, SerotypeFinder (v.2.0) para la búsqueda de serotipos de *E. coli*.

Se realizó una comparación de genomas para cada especie, para ello se construyó un árbol filogenético utilizando Parsnp v2.1.2. En el caso de *E. coli*, se tomó como referencia la cepa *E. coli* K-12 substr. MG1655 y para *Klebsiella pneumoniae*, se tomó la *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* MGH 78578 y no se incluyó en la muestra a *Klebsiella quasipneumoniae*, por ser una especie genéticamente distante en algunos nucleótidos. Se utilizaron parámetros estándar. Para la visualización y edición del árbol se utilizó iTOLv7.

3.7. Análisis de datos

Las variables categóricas fueron descritas mediante el uso de frecuencias e intervalos de confianza. Para las variables numéricas, se utilizaron medidas de tendencia central y dispersión. El análisis bivariado se realizó mediante el uso de la prueba de Chi cuadrado y T-student. Los aislados que presentaron resistencia a tres o más grupos de antimicrobianos fueron categorizados como MDR (multidrogoresistente). Se estimó la razón de prevalencia de los hallazgos principales y un modelo de regresión para la exploración de factores de riesgo asociados a la presencia de aislados resistentes y MDR. Para el análisis se utilizó un nivel de confianza del 95% y los paquetes estadístico Microsoft Excel y Stata v17.0.

3.8. Consideraciones éticas

El presente proyecto está enfocado en la caracterización de bacterias aisladas como unidad de análisis. Por lo tanto, no se tuvo acceso a datos privados de pacientes, ya que cada muestra evaluada fue codificada mediante números y letras, con el fin de proteger al paciente.

Asimismo, las muestras empleadas en el presente proyecto pertenecen al proyecto titulado “CARACTERIZACIÓN Y COMPARACIÓN DE ENTEROBACTERIAS RESISTENTES A ANTIBIÓTICOS AISLADAS DE AGUAS RESIDUALES, HEMOCULTIVOS Y UROCULTIVOS DEL INSN-SB”, el cual fue ganador del fondo concursable del INSN SB 2018 y aprobado por el Comité de ética de la misma institución con OFICIO N° -CIEI-INSN-SAN BORJA el 23 de agosto de 2018.

IV. RESULTADOS

Se obtuvieron en total 51 aislados bacterianos de cultivos de sangre y orina de pacientes pediátricos del Instituto Nacional de Salud del Niño, San Borja. Del total, se identificaron 34 aislados de *Escherichia coli* (66.7%) y 17 (33.3%) aislados pertenecientes al complejo de especies *Klebsiella pneumoniae* (KpSC), 16 de ellos identificados como *Klebsiella pneumoniae* y uno como *Klebsiella quasineumoniae* subsp. *similipneumoniae*, la cual fue considerada dentro del número total de aislados pertenecientes al complejo de especies *Klebsiella pneumoniae* (KpSC). Finalmente, el 15.7% de los aislados fueron obtenidos de cultivos de sangre y el 84.3% de cultivos de orina.

La multidrogorresistencia se detectó en 77.4% de *E. coli* de urocultivos y el 75% de hemocultivos. Para *Klebsiella pneumoniae* (KpSC), el 72.7% (urocultivo) y el 80 % (hemocultivos) tuvieron esta característica. El 51.4% de aislados *E. coli* fueron productoras de BLEE y el 68.8% fueron del complejo *Klebsiella pneumoniae*. De las *E. coli*, 100% fueron de hemocultivos y el 45.2% de urocultivos. En el caso de las *K. pneumoniae* (KpSC), 80% fueron de hemocultivos y 63.6% de urocultivos.

Los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana muestran altos valores de resistencia a amoxicilina 82.4% y 94.1%, para tetraciclina 61.8% y 64.7%, para cefalotina 61.8 y 58.8% para *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae* (KpSC) respectivamente. Todos los aislados de *E. coli* mostraron susceptibilidad para cefoxitina y en el caso de *Klebsiella pneumoniae* (KpSC), a ceftriaxona, cefoxitina y amoxicilina con ácido clavulánico. Además, absolutamente todos los aislados mostraron susceptibilidad para carbapenémicos (imipenem y meropenem) y no hubo presencia de AmpC en ambas especies. Se detallan los valores obtenidos del total de antibióticos evaluados en la Tabla 2 y 3.

Tabla 2*Caracterización fenotípica de aislados de Escherichia coli*

Resultados	<i>Escherichia coli</i> (n=34)			
	Orina (n=31)	Sangre (n=3)	Total	p-value*
Multidrogo resistencia				
Positivo	25 (80.6)	3(100)	28(82.4)	0.665*
BLEE				
Positivo	15(48.4)	3(100)	18(52.9)	0.058*
Fenicoles				
Cloranfenicol	8(25.8)	1(33.3)	9(29.4)	0.268
Tetraciclinas				
Tetracycline	19(61.3)	2(66.7)	21(61.8)	0.581
Sulfonamidas				
Trimetoprim/sulfametoxazol	19(61.3)	0 (0)	19(55.9)	0.165
Aminoglucósidos				
Gentamicina	3(9.7)	0 (0)	3(8.8)	0.477
Amikacina	0 (0)	1(33.3)	1(2.9)	0.681*
Macrólidos				
Azitromicina	12(38.7)	0 (0)	12(35.3)	0.102
Penicilinas				
Amoxicillina	25(80.6)	3(100)	28(82.4)	0.391
Amoxicillina con Ácido Clavulánico	1(3.2)	0 (0)	1(2.9)	0.886*
Aztreonam	7(22.6)	2(66.7)	9(26.5)	0.268*
Piperacillina	18(58.1)	3(100)	21(61.8)	0.370*
Cephalosporinas				
Cefalotina	19(61.3)	2(66.7)	21(61.8)	0.470
Cefotaxima	18(58.1)	2(66.7)	20(58.8)	0.419*
Cefepime	10(32.3)	2(66.7)	12(35.3)	0.425*
Ceftazidima	4(12.9)	2(66.7)	6(17.6)	0.128*
Ceftriaxona	4(12.9)	0 (0)	4(11.8)	0.601*
Quinolonas				
Ácido Nalidixico	23(74.2)	3(100)	26(76.5)	0.335*
Ciprofloxacina	14(45.2)	3(100)	17(50)	0.039

Tabla 3

Caracterización fenotípica de aislados de Klebsiella pneumoniae (KpSC)

Resultados	<i>Klebsiella pneumoniae (KpSC) (n=17)</i>			
	Orina (n=12)	Sangre (n=5)	Total	p-value*
Multidrogo resistencia				
Positivo	8(72.7)	5(100)	13(76.5)	0.635*
BLEE				
Positivo	6(63.6)	4(80)	10(58.8)	0.484*
Fenicoles				
Cloranfenicol	1(9.1)	0(0)	1(5.9)	0.687*
Tetraciclinas				
Tetracycline	6(50)	5(100)	11(64.7)	0.181*
Sulfonamidas				
Trimetoprim/sulfametoxazol	7(58.3)	4(80)	11(64.7)	0.484
Aminoglucósidos				
Gentamicina	1(8.3)	3(60)	4(23.5)	0.063*
Amikacina	0(72.7)	1(20)	12(70.6)	0.635*
Macrólidos				
Azitromicina	4(33.3)	2(40)	5(29.4)	0.516*
Penicilinas				
Amoxicilina	11(91.7)	5(100)	16(94.1)	N/A
Aztreonam	1(8.3)	1(20)	2(11.8)	0.705*
Piperacilina	5(41.7)	3(60)	8(47.1)	0.654*
Cephalosporinas				
Cefalotina	6(50)	4(80)	10(58.8)	0.484*
Cefotaxima	6(50)	4(80)	10(58.8)	0.484*
Cefepime	4(33.3)	2(40)	7(41.2)	0.635*
Ceftazidima	1(8.3)	1(20)	2(11.8)	0.705
Quinolonas				
Ácido Nalidixico	5(41.7)	3(60)	8(47.1)	0.365*
Ciprofloxacina	4(33.3)	3(60)	7(41.2)	0.365*

El análisis de genes de resistencia a betalactámicos en aislados de *E. coli* provenientes de urocultivos, detectó mayor prevalencia del gen blaTEM-1 (14.7%), seguido de blaCTXM-55(14.71%) y en menor prevalencia blaTEM-141, blaCTXM-15 (Figura 1). Para aislados de hemocultivos, se encontró mayor prevalencia para el gen blaOXA-1 (5.88%) y en menores porcentajes (2.94%) los genes blaCTXM-5, blaTEM-141, blaCTXM-15 (Figura1). Sólo dos aislados portaban los genes blaCTXM-2 y blaCTXM-3; otros dos el gen blaCTXM-27 y uno

con blaCTXM-14. En los aislados de *Klebsiella pneumoniae* (KpSC) provenientes de urocultivos, mostraron mayor prevalencia para el gen blaTEM-1(41.18%), seguido del blaOXA-1(35.29%) y en menor prevalencia los genes blaCTXM15, blaSHV106 y blaSHV110. Se identificaron dos aislados con genes blaTEM141, blaCTXM55, blaOKPB3 y blaCTXM3 y sólo un aislado con el gen blaSHV26 (Fig.2 y 5).

Figura 1

Prevalencia de genes betalactámicos en aislados de E. coli

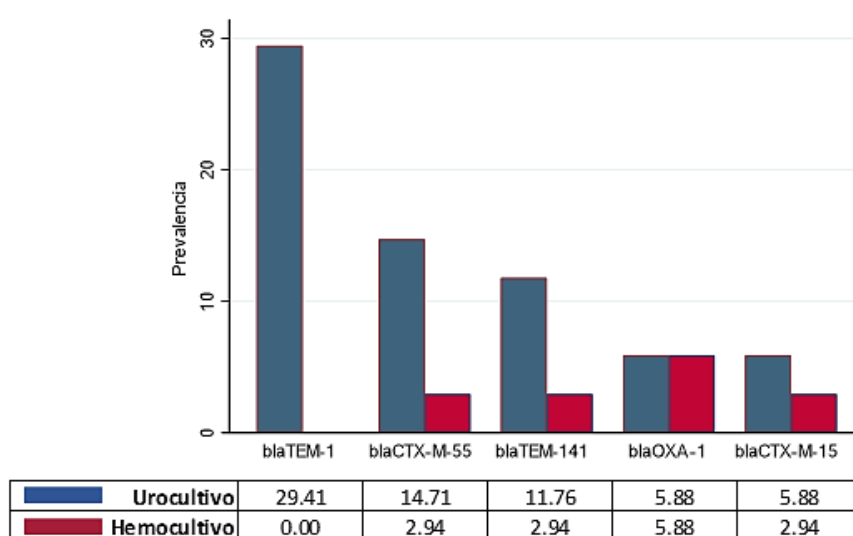
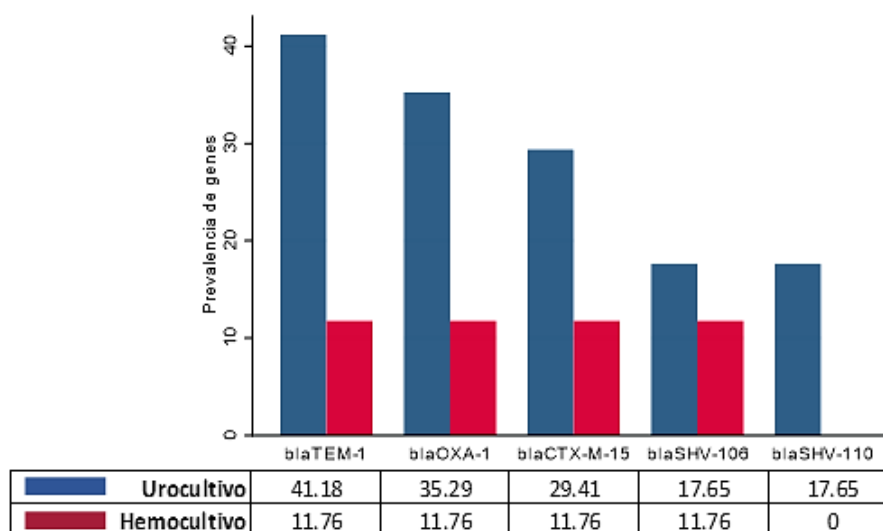


Figura 2

Prevalencia de genes betalactámicos en aislados de K. pneumoniae (KpSC)



La caracterización del genoma permitió identificar genes de resistencia a múltiples antibióticos en ambas especies del estudio tanto de *E. coli*, como de *K. pneumoniae*(KpSC), en ambos casos se detectaron genes que confieren resistencia a aminoglucósidos (*ant(2'')-Ia*, *ant(3'')-Ia*, *aac(3)-IId*, *aac(3)-IIa*, *aadA5*, *aph(3'')Ia*, *aph(3'')-Ib*, *aph(6)-Id*, *aac(3)-VIa*, *aadA2*, *aph(3'')-IIa*). Genes de dihidrofolato reductasa *dfrA*, incluidos los alelos *dfrA1/7/8/12/14/17* codificaron la enzima de resistencia a trimetoprima. La resistencia a sulfonamidas se evidenció con la presencia de los genes *sul1*, *sul2* y *sul3*. Codificando resistencia a macrólidos, se identificaron los genes *mph(A)* y *erm(B)*. Se detectaron genes *tetA* y *tetB* que codifican resistencia a la tetraciclina. Para la resistencia a quinolonas, se detectó el gen *qnrB19*. Asimismo, se identificó el gen *aac(6'')-Ib-cr* que confieren doble resistencia a los antibióticos aminoglucósidos y fluoroquinolónicos. Se determinaron los genes *fosA6* y *fosA3* que codifican resistencia a fosfomicinas. En cuanto a la resistencia a fenicoles, se identificaron los genes

catA1, *floR* y *cmlA1*. En el caso de la colistina, se identificó el gen *mcr-1.1* en aislados de *E. coli* y una variante de este gen el *mcr-1.11* en aislados de *K. pneumoniae* (KpSC). La resistencia a lincosamidas se evidenció con el gen *lnu(F)*, sólo en aislados de *K. pneumoniae* (KpSC) (figura 5).

El análisis MLST permitió identificar los secuenciotipos (STs) de los aislados, en total se identificaron 20 STs de *E. coli*, de los cuales el ST-131 fue el más frecuente en aislados hemocultivos y urocultivos, seguido por el ST-101 y ST-193, sólo identificados en muestras de urocultivos (Fig.3). Para los aislados de *K. pneumoniae* (KpSC), se determinaron 10 STs, siendo el ST -15 el más frecuente en muestras de ambas procedencias, seguido del ST-25 Y ST-1137, identificados en aislados de urocultivos (ver Fig. 4).

Figura 3

Frecuencia de ST en aislados de E. coli de urocultivos y hemocultivos

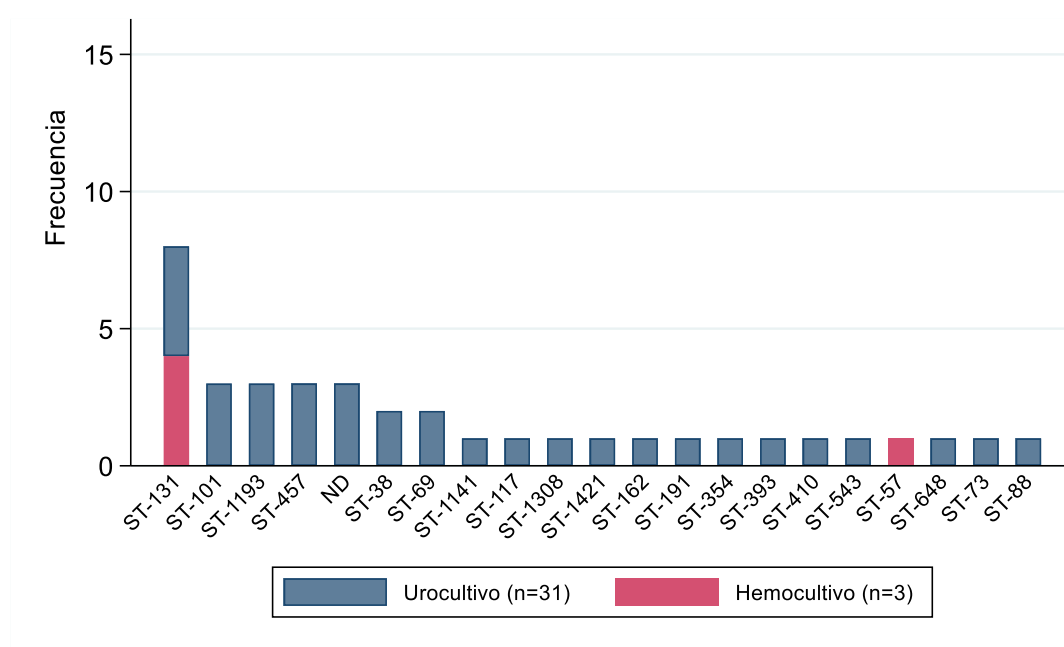
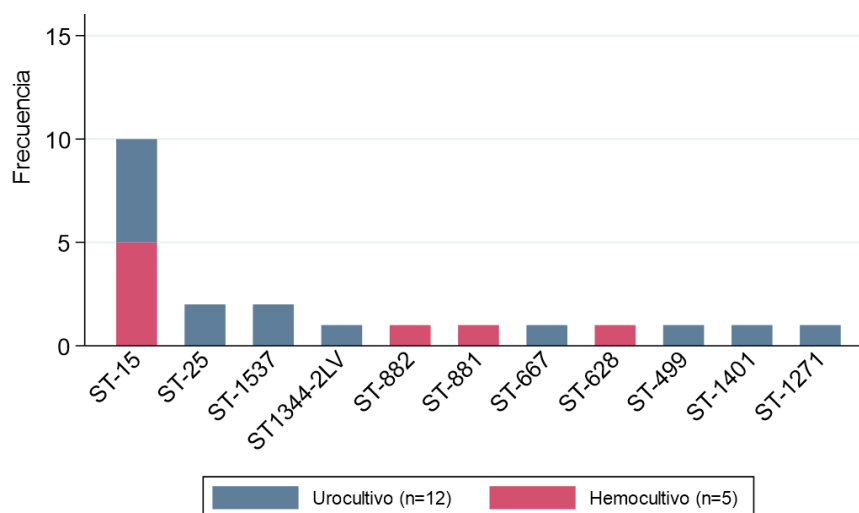


Figura 4

Frecuencia de ST en aislados de K. pneumoniae (KpSC) de urocultivos y hemocultivos



En los genomas analizados de *E. coli* se encontraron asociaciones entre los ST-131, serotipo O25:H4 y los genes de resistencia bla-OXA-1, blaCTXM-15 y fosA. Los ST-101 con el serotipo O15:H31 y los genes bla-TEM-1, sul1, sul2, tetA, tetB. Los ST- 457, al serotipo O11:H25 y los genes mcr1.1, sul3, floR y tetA (Fig.5). Para *K. pneumoniae*, se encontraron asociaciones principales entre el ST-15 y los genes de resistencia bla-OXA-1, bla-TEM-1, blaCTXM-15, blaSHV-106, mcr1.1, sul1, tetA, fosA6, y oqxA/B. Los ST-25 presentaron asociación a blaCTXM-15, bla-OXA-1, bla-TEM-1, fosA6, sul2 y oqxA/B (Fig.6).

En el análisis filogenético de aislados de *E. coli* (Fig. 5) se puede observar que el total de las muestras divergen de dos clados principales. Los códigos de muestras 580, 581 y 592 son distintas procedencias (hemocultivo y urocultivo) y año de colecta (2018 y 2019), se muestran con una relación bastante cercana y presentan el mismo ST y serotipo (ST-131 y

O25:H4 respectivamente). En la filogenia de *K. pneumoniae* (Fig.6), se resalta la presencia de 5 aislados (586, 588, 579, 587 y 589) que pertenecen a un mismo clado con un mismo ancestro en común, distinta fuente de procedencia y del mismo año de colecta (2019), 3 de estas presentan una estrecha relación y el mismo ST-15.

Figura 5

Filogenia, distribución de genes de resistencia, secuenciotipos (ST), serotipos, según el año y origen de muestreo de *E. coli*

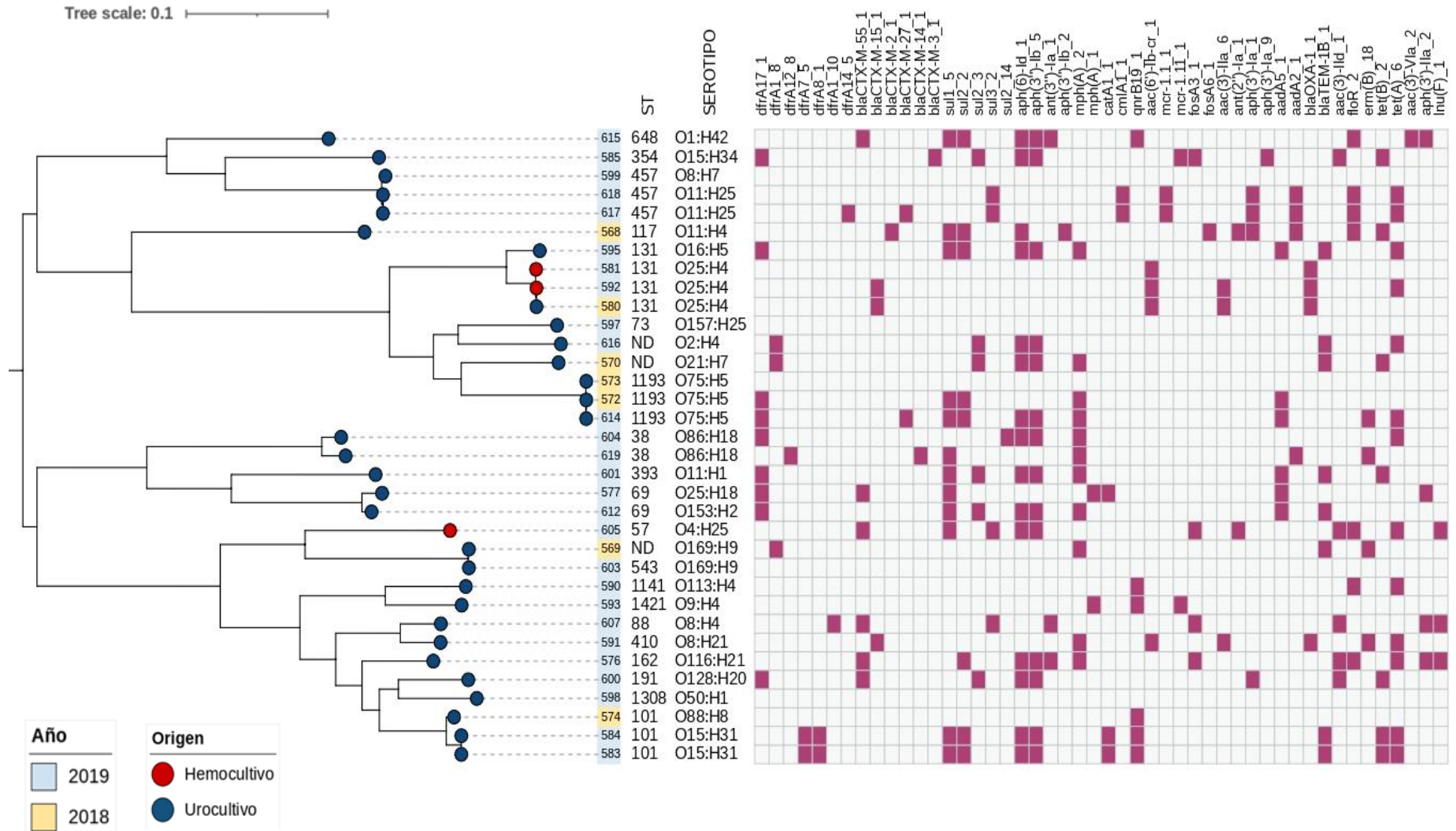
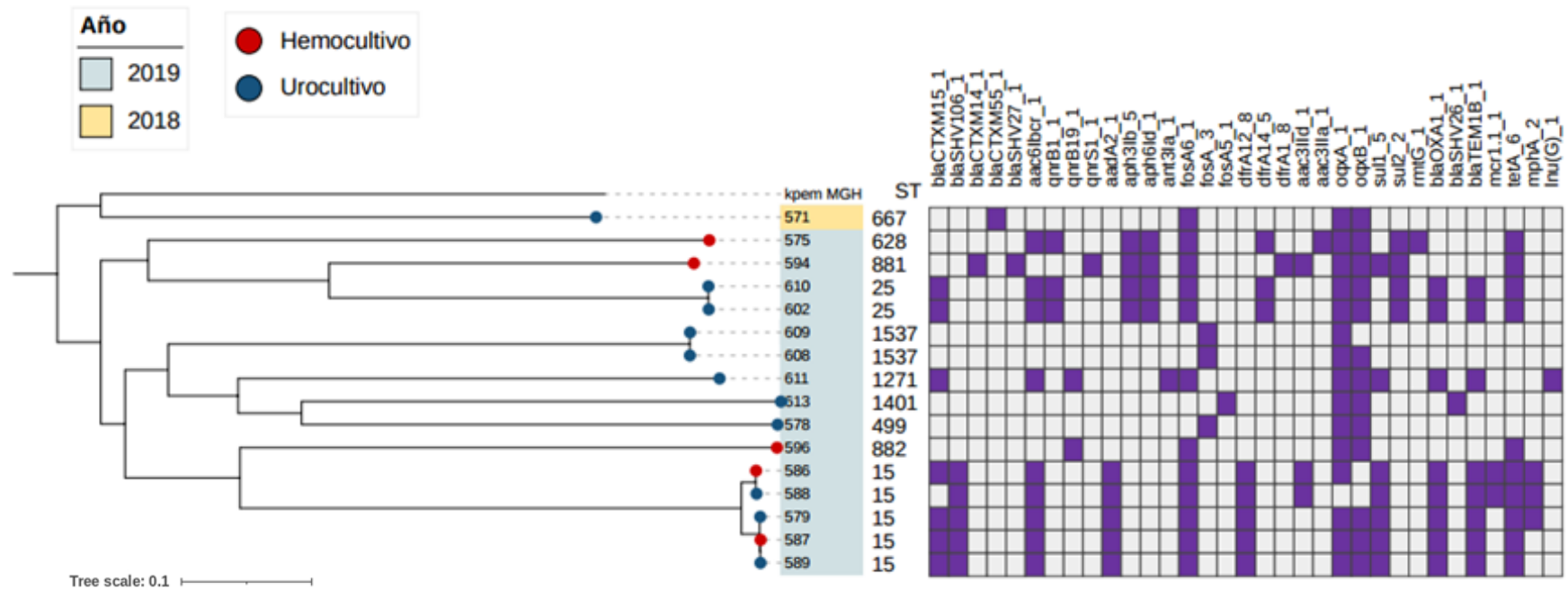


Figura 6

Filogenia, distribución de genes de resistencia, secuenciotipos(ST) según el año y origen de muestreo de *K. pneumoniae*



V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La caracterización genómica de aislados bacterianos permite un avance significativo en la comprensión de las infecciones nosocomiales que afectan a la población pediátrica a nivel mundial (Moustafa et al., 2020; Pereira et al., 2013; Prokop et al., 2018). Tal es así, que la infección del tracto urinario ha sido reportada como una de las más frecuentes en el grupo pediátrico y niños menores de un año (Birgy et al., 2020; Lipworth et al., 2022), lo cual se evidencia en el presente estudio, en donde se pudo identificar a *E. coli* como el aislado más prevalente. Por su parte, estudios en México, Colombia y Brasil, identifican a *Klebsiella pneumoniae* con mayor prevalencia en infecciones del torrente sanguíneo y urinarias especialmente en neonatos y pacientes con condiciones subyacentes (Coria-Lorenzo et al., 2021; Pereira et al., 2013; Vanegas et al., 2016). Estos resultados son acordes con lo evidenciado en el presente trabajo.

Con antecedentes de infecciones recurrentes del tracto urinario, el uso permanente del catéter, y el uso indiscriminado de antibióticos, entre otros factores de riesgo para la producción de BLEE, *Escherichia coli* y *K. pneumoniae* son las bacterias productoras de BLEE más comunes a nivel mundial (Keshi et al., 2019). Las tasas de detección son más altas en América Latina, África-Medio Oriente, pero más bajas para Asia, Europa y América del Norte (Keshi et al., 2019; Yang et al., 2023), lo cual se ve reflejado en este estudio. El análisis fenotípico de bacterias productoras de BLEE, encontró mayor prevalencia de *K. pneumoniae* (KpSC) que de *E. coli*, el cual guarda relación al estudio realizado de pacientes pediátricos en América Latina, África, Oriente Medio y Asia (Gonzales et al., 2019; Yang et al., 2023).

El valor predominante a la resistencia se observa para amoxicilina en *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae* (KpSC), esto podría deberse a que tanto este antibiótico como la gentamicina, son utilizados como tratamientos empíricos para la sepsis neonatal en distintos

centros hospitalarios de América Latina y Europa (Azimi et al., 2019; Lipworth et al., 2022; Mendieta-Tello et al., 2023). Sin embargo, la combinación de amoxicilina más ácido clavulánico funciona como un "inhibidor suicida", uniéndose irreversiblemente a las enzimas β -lactamasas bacterianas y evitando así que hidrolicen este antibiótico, siendo más eficaz en los tratamientos de infecciones de tracto respiratorio, urinario, piel, entre otros (Huttner et al., 2019). En el presente estudio, los valores de resistencia para este antibiótico, fueron bastante bajos en *E. coli* y *K. pneumoniae* (KpSC), lo cual se asemeja a los porcentajes evaluados en un estudio en pacientes pediátricos en Cajamarca-Perú (Caruajulca Arana, 2024), a su vez, difiere de estudios realizados en otros distritos de Lima, Perú (Coricaza Cuaresma et al., 2019; Prieto Farfan, 2024), América Latina, África-Oriental-Medio Oriente y Asia, donde los porcentajes son variables y algunos mayores (Azimi et al., 2019; Letara et al., 2021; Perez-Lopez et al., 2020; Sands et al., 2021; Yang et al., 2023).

En los últimos años, la prevalencia de cepas de *E. coli* resistentes a los medicamentos ha aumentado, principalmente debido al uso excesivo e indebido de antibióticos. Estas infecciones resistentes a los medicamentos pueden dar lugar a fracasos del tratamiento, estancias hospitalarias prolongadas y mayores costos de atención médica (Le et al., 2024). En el análisis fenotípico de susceptibilidad a los antimicrobianos, los aislados de *E. coli* presentaron mayor prevalencia en la resistencia a quinolonas como el ácido nalidíxico y ciprofloxacino, lo cual es acorde a dos estudios en el país (Caruajulca Arana, 2024; Coricaza Cuaresma et al., 2019), sin embargo, no se relaciona con los datos de consumo para este antibiótico en el centro pediátrico estudiado, el cual vemos que es ausente para ácido nalidíxico y un porcentaje menor en ciprofloxacino (Anexo A y B), esto podría ser por la restricción de uso de esta familia de antibióticos en niños, pero es ampliamente prescrito en adultos (Arés Álvarez et al., 2017). Al observar los niveles altos a esta resistencia podría sugerir la transferencia horizontal de genes entre bacterias (entornos comunitarios) o por transmisión

vertical que puede ocurrir entre la madre y su descendencia al nacer y durante la lactancia, o de forma espontánea debido a la exposición a antibióticos (Patangia et al., 2021). Además se muestra altos niveles de resistencia a cefalosporinas como la cefalotina y cefotaxima, antibióticos comúnmente usados en el tratamiento de ITUS (Mundaca Hurtado et al., 2020), esto guarda similitud a estudios nacionales y en América Latina, África y Asia (Coricaza Cuaresma et al., 2019; Mendieta-Tello et al., 2023; Sánchez-Álvarez et al., 2022; Sands et al., 2021; Yang et al., 2023). Cabe resaltar la baja resistencia por parte de los aminoglucósidos como la amikacina, siendo este medicamento un fármaco de segunda línea en el tratamiento de ITUs, por lo que podría usarse en la prescripción, según la evaluación de los exámenes y criterio del médico (Chica et al., 2024; Coricaza Cuaresma et al., 2019).

En los aislados de *K. pneumoniae* (KpSC), se evidenció mayor resistencia a tetraciclinas, sin embargo este antibiótico es muy poco utilizados en la población pediátrica, y su uso es limitado y controvertido en la infancia por sus efectos secundarios (Ramos, 2024); seguido por las sulfonamidas como el trimetoprim-sulfametoxazol, este resultado es acorde al porcentaje en países de América Latina, África y en menor porcentaje en Asia (Carrión Anampa, 2019; Yang et al., 2023). Los porcentajes de resistencia a cefalosporinas de primera a cuarta generación también fueron mayores, lo cual es acorde a estudios en países de América Latina y África, Oriente Medio y Asia en los últimos años (Yang et al., 2023), pero difiere de un estudio en siete países de ingresos bajos y medianos, donde los porcentajes de resistencia a cefalosporinas son mucho mayores (Sands et al., 2021). De acuerdo a la literatura internacional, las cefalosporinas de tercera y cuarta generación son posibles medicamento de elección en las infecciones urinarias complicadas (Mendieta-Tello et al., 2023), pero debido a la alta resistencia notable para este microorganismo en la presente investigación, no se recomendaría iniciar un tratamiento con estos medicamentos. Importante destacar la alta sensibilidad encontrada para los antibióticos amikacina y aztreonam, los cuales serían una buena opción en

el tratamiento de estas infecciones. Mencionar también que los aislados de *K. pneumoniae* (KpSC), presentaron total susceptibilidad para imipenem y meropenem.

La capacidad de muchos bacilos gramnegativos de adquirir e intercambiar fácilmente material genético, en particular genes a través de elementos genéticos móviles nos da entender que la proliferación de cepas resistentes a los fármacos sigue representando una amenaza constante (Lipworth et al., 2022). En el presente estudio, se observó una amplia distribución de genes de resistencia incluidos los genes betalactámicos y otros que confieren resistencia a aminoglucósidos, sulfonamidas, macrólidos, tetraciclinas, quinolonas, fosfomicinas, fenicoles, entre otros, los cuales guardan relación con el análisis fenotípico realizado de los mismos. Los aislados de *K. pneumoniae* (KpSC) y *E. coli*, mostraron tasas elevadas de resistencia a casi todos los β -lactámicos probados y a otros antibióticos múltiples (Moghnia & Al-Sweih, 2022).

Las BLEE son grupos de enzimas mediados por plásmidos que hidrolizan penicilinas, cefalosporinas de espectro extendido y aztreonam, son causadas por la producción de SHV, TEM y CTX-M codificados por los genes bla SHV, bla TEM y bla CTX-M respectivamente, hasta el momento se han descrito casi 300 variaciones distintas de BLEE (El Aila et al., 2023). Aunque blaCTX-M se reporta como el más frecuente a nivel mundial en la población pediátrica (Alcedo et al., 2022; Yang et al., 2023), en contraste con los hallazgos, el más frecuente en el presente estudio fue blaTEM-1 para ambas especies, seguido del blaCTX-M-15, el tipo BLEE más extendido en todo el mundo (Lipworth et al., 2022; Perez-Lopez et al., 2020; van Aartsen et al., 2019) y el gen blaOXA-1, este último guarda relación con los porcentajes encontrados en estudios nacionales (Alcedo et al., 2022; Ramírez Campos, 2019). Por otro lado, la literatura indica que blaTEM-1 parece tener un efecto inhibitorio sobre tazobactam, la coproducción común de OXA-1 solo o acompañado de TEM-1 hace que piperacilina/tazobactam sea un agente poco confiable para el tratamiento empírico o definitivo de infecciones sistémicas por BLEE (Perez-Lopez et al., 2020).

La estructura poblacional de *E. coli* cambia con el tiempo, en particular debido a la aparición de clones resistentes a los antibióticos (Birgy et al., 2020). *E. coli* ST131 es un clon que ha emergido globalmente como el linaje patógeno extraintestinal más predominante dentro de esta especie clínicamente importante, y su asociación con la resistencia a las fluoroquinolonas y a las cefalosporinas de espectro extendido impacta significativamente en el tratamiento, su historia evolutiva sigue sin estar claramente definida (Stoesser et al., 2016). Además, este clon también se ha detectado en animales domésticos y salvajes, y alimentos (Badran et al., 2016), este predominio se evidencia en este estudio, seguido por el ST101 presente únicamente en aislados de urocultivos, se ha encontrado en aislados de alimentos cárnicos y vegetales (Castro Rodríguez, 2022; Sánchez Gavilanes, 2023) otro linaje prevalente fue el ST57 identificado de aislados de hemocultivos, se reporta en *E. coli* de pollos de crianza y ganado en países europeos (Mo et al., 2020; Pietsch et al., 2018). Por su parte, en *K. pneumoniae* se ha encontrado con mayor prevalencia el grupo clonal ST15, asociado con la producción de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas y se ha indicado en casos clínicos y brotes hospitalarios en todo el mundo (Berglund et al., 2019), seguido del ST25, asociado a aislados hipervirulentos en Asia (Du et al., 2022)

En los últimos años, se ha detectado cada vez más en todo el mundo un nuevo clon de *E. coli* llamado O25:H4-ST131 productor de blaCTX-M-15, y este clon se asoció principalmente con la comunidad y causó infecciones extraintestinales. El clon es multirresistente, incluida la resistencia a las fluoroquinolonas y las cefalosporinas de tercera generación, el cual se evidencia en este estudio (Badran et al., 2016). Al igual que *E. coli* ST131, *E. coli* ST1193 es un clon emergente exitoso de alto riesgo para *E. coli* multidrogorresistente y una causa importante de infecciones urinarias y del torrente sanguíneo de inicio en la comunidad (Pitout et al., 2022). ST1193 se asocia al serotipo O75:H5 y es conocido por sus potentes capacidades mutagénicas y de formación de biopelículas (Shao

et al., 2023), el cual se encuentra también en el presente estudio, vinculado a los genes de resistencia blaCTX-M-2 y sul1 y sul2. Además de la presencia de *E. coli* ST 457 serotipo O11:H25, un linaje de *E. coli* de amplio rango de hospedadores y diseminado globalmente, en algunos casos portando el gen mcr-1 en pacientes que residen en Estados Unidos, México, China y Vietnam (Nesporova et al., 2020)

Los resultados de filogenia para ambas especies, no evidencian una posible transmisión nosocomial de los aislamientos, lo que sugiere que en nuestro entorno, los aislamientos invasivos podrían estar adquiriéndose del medio ambiente, la flora gastrointestinal colonizadora o son resultado de la transmisión de los padres u otros contactos cercanos (Lipworth et al., 2022).

VI. CONCLUSIONES

- La caracterización del genoma de *Escherichia coli* y *Klebsiella sp.* ha proporcionado una visión detallada de la variabilidad genética, sumado a las características fenotípicas obtenidas, ofrece información relevante de la población pediátrica.
- *Escherichia coli* se destaca como el patógeno más frecuente en las infecciones del tracto urinario y del torrente sanguíneo en la población pediátrica, lo que resalta la importancia de la vigilancia y el diagnóstico oportuno de estas infecciones nosocomiales.
- Los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana de los aislados de *Escherichia coli* y *Klebsiella sp* mostraron altos niveles de multidrogorresistencia, con mayor prevalencia a las penicilinas (amoxicilina), tetraciclinas y cefalosporinas de primera y segunda generación para ambas especies.
- La determinación de los genes de resistencia en los aislados de *Escherichia coli* y *Klebsiella sp.* obtenidos de cultivos de sangre y orina a través del secuenciamiento del genoma completo (WGS), permitió identificar genes de relevancia clínica, que incluyen el *bla*_{TEM-1}, *bla*CTX-M-15, *mcr-1*.

VII. RECOMENDACIONES

- Es de suma importancia realizar estudios de vigilancia genómica en la población pediátrica, ya que es poco estudiada en el país.
- Ampliar las investigaciones y realizar el seguimiento de otras enterobacterias circulantes en el entorno hospitalario y comunidad.
- Incrementar los estudios de búsqueda de posibles vías de transmisión de genes en el ambiente, animales y humanos
- Elaborar mapas microbiológicos en los hospitales y poner a disponibilidad la información para uniformizar la data en el país.

VIII. REFERENCIAS

- Abushaheen, M. A., Muzaheed, Fatani, A. J., Alosaimi, M., Mansy, W., George, M., Acharya, S., Rathod, S., Divakar, D. D., Jhugroo, C., Vellappally, S., Khan, A. A., Shaik, J., & Jhugroo, P. (2020). Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. *Disease-a-Month*, 66(6), 100971. <https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2020.100971>
- Ajulo, S., & Awosile, B. (2024). Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS 2022): Investigating the relationship between antimicrobial resistance and antimicrobial consumption data across the participating countries. *PLOS ONE*, 19(2), e0297921. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0297921>
- Alcedo, K., Ruiz, J., Ochoa, T. J., & Riveros, M. (2022). High Prevalence of blaCTX-M in Fecal Commensal *Escherichia coli* from Healthy Children. *Infection & Chemotherapy*, 54(1), 59–69. <https://doi.org/10.3947/ic.2021.0102>
- Allocati, N., Masulli, M., Alexeyev, M. F., & Di Ilio, C. (2013). *Escherichia coli* in Europe: An Overview. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/ijerph10126235>
- Arés Álvarez, F., Martínez de la Ossa Sáenz-López, R., Alfayate Miguélez, S., Arés Álvarez, F., Martínez de la Ossa Sáenz-López, R., & Alfayate Miguélez, S. (2017). Quinolonas en Pediatría. *Pediatría Atención Primaria*, 19(74), e83–e92.
- Arzanlou, M., Chai, W. C., & Venter, H. (2017). Intrinsic, adaptive and acquired antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria. *Essays in Biochemistry*, 61(1), 49–59. <https://doi.org/10.1042/EBC20160063>
- Ayukekbong, J. A., Ntemgwa, M., & Atabe, A. N. (2017). The threat of antimicrobial resistance in developing countries: Causes and control strategies. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 6, 47. <https://doi.org/10.1186/s13756-017-0208-x>

- Azimi, T., Maham, S., Fallah, F., Azimi, L., & Gholinejad, Z. (2019). Evaluating the antimicrobial resistance patterns among major bacterial pathogens isolated from clinical specimens taken from patients in Mofid Children's Hospital, Tehran, Iran: 2013–2018. *Infection and Drug Resistance*, 12, 2089–2102. <https://doi.org/10.2147/IDR.S215329>
- Badran, E. F., Din, R. A. Q., & Shehabi, A. A. (2016). Low intestinal colonization of Escherichia coli clone ST131 producing CTX-M-15 in Jordanian infants. *Journal of Medical Microbiology*, 65(2), 137–141. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000210>
- Baran, A., Kwiatkowska, A., & Potocki, L. (2023). Antibiotics and Bacterial Resistance—A Short Story of an Endless Arms Race. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(6), 5777. <https://doi.org/10.3390/ijms24065777>
- Berglund, B., Hoang, N. T. B., Tärnberg, M., Le, N. K., Nilsson, M., Khu, D. T. K., Svartström, O., Welander, J., Nilsson, L. E., Olson, L., Dien, T. M., Le, H. T., Larsson, M., & Hanberger, H. (2019). Molecular and phenotypic characterization of clinical isolates belonging to a KPC-2-producing strain of ST15 Klebsiella pneumoniae from a Vietnamese pediatric hospital. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 8, 156. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0613-4>
- Birgy, A., Madhi, F., Jung, C., Levy, C., Cointe, A., Bidet, P., Hobson, C. A., Bechet, S., Sobral, E., Vuthien, H., Ferroni, A., Aberrane, S., Cuzon, G., Beraud, L., Gajdos, V., Launay, E., Piquier, D., Haas, H., Desmarest, M., ... Group of the National Observatory of Urinary tract Infection due to ESBL-producing Enterobacteriaceae in children. (2020). Diversity and trends in population structure of ESBL-producing Enterobacteriaceae in febrile urinary tract infections in children in France from 2014 to 2017. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 75(1), 96–105. <https://doi.org/10.1093/jac/dkz423>
- Blair, J. M. A., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. V. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews. Microbiology*, 13(1), 42–51. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3380>

- Carrión Anampa, V. D. (2019). *Revisión sistemática de las tesis relacionadas con la determinación de metales pesados en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos 2008—2018.*
- Caruajulca Arana, C. M. (2024). *Resistencia antimicrobiana de gérmenes causantes de infecciones del tracto urinario en pacientes pediátricos en el Hospital II EsSalud Cajamarca, 2022.*
<https://repositorio.unc.edu.pe/handle/20.500.14074/6473>
- Castro Rodríguez, R. A. (2022). *Resultados de la resistencia antimicrobiana de Escherichia coli obtenida de productos cárnicos a través de técnicas microbiológicas, moleculares y secuenciamiento genómico completo. Una revisión sistemática.*
<https://repositorio.upch.edu.pe/handle/20.500.12866/11249>
- Chica, C. A. Z., Mejía, Á. M. G., Velásquez, Á. M. G., Villegas, M. M. M., Llanos, P. G., Bolaños, F. M. M., Hernández, J. P. O., & Álvarez, J. M. E. (2024). Perfil epidemiológico y microbiológico de la primera infección urinaria en una población pediátrica. *Revista Repertorio de Medicina y Cirugía*, 33(3), Article 3. <https://doi.org/10.31260/RepertMedCir.01217372.1449>
- Cisterna, R., Cabezas, V., Gómez, E., Busto, C., Atutxa, I., & Ezpeleta, C. (2001). [Community-acquired bacteremia]. *Revista Espanola De Quimioterapia: Publicacion Oficial De La Sociedad Espanola De Quimioterapia*, 14(4), 369–382.
- Coria-Lorenzo, J. de J., Pérez-Robles, V. M., Pérez-Avendaño, G., Torres-García, M., Mora-Suárez, R., Ojeda-Sánchez, A., Sánchez-Flores, Y., Sánchez-Flores, D. M., Vázquez-Flores, A., & Aguilar-Torres, R. L. (2021). Patrones de susceptibilidad de gramnegativos en un hospital pediátrico de tercer nivel: 2013 vs. 2018. *Perinatol. reprod. hum*, 89–98.
- Coricaza Cuaresma, F., Apolaya Segura, M., & Diaz Velez, C. (2019). *Vista de Perfil microbiológico y resistencia antibiótica en el servicio de pediatría de una clínica privada, 2016.*
<https://cmhnaaa.org.pe/ojs/index.php/rcmhnaaa/article/view/511/268>
- Cué Bruguera, M., & Morejón García, M. (1998). Antibacterianos de acción sistémica: Parte I. Antibióticos betalactámicos. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 14(4), 347–361.

- De la Fuente-Salcido, N. M., Villarreal-Prieto, J. M., Díaz León, M. Á., García Pérez, A. P., De la Fuente-Salcido, N. M., Villarreal-Prieto, J. M., Díaz León, M. Á., & García Pérez, A. P. (2015). Evaluación de la actividad de los agentes antimicrobianos ante el desafío de la resistencia bacteriana. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 46(2), 7–16.
- Dong, N., Yang, X., Chan, E. W.-C., Zhang, R., & Chen, S. (2022). Klebsiella species: Taxonomy, hypervirulence and multidrug resistance. *EBioMedicine*, 79, 103998. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.103998>
- Du, Q., Pan, F., Wang, C., Yu, F., Shi, Y., Liu, W., Li, Z., He, P., Han, D., & Zhang, H. (2022). Nosocomial dissemination of hypervirulent Klebsiella pneumoniae with high-risk clones among children in Shanghai. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 984180. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.984180>
- El Aila, N. A., Al Laham, N. A., & Ayesb, B. M. (2023). Prevalence of extended spectrum beta lactamase and molecular detection of blaTEM, blaSHV and blaCTX-M genotypes among Gram negative bacilli isolates from pediatric patient population in Gaza strip. *BMC Infectious Diseases*, 23(1), 99. <https://doi.org/10.1186/s12879-023-08017-1>
- Fabre, V., Cosgrove, S. E., Secaira, C., Tapia Torrez, J. C., Lessa, F. C., Patel, T. S., & Quiros, R. (2022). Antimicrobial stewardship in Latin America: Past, present, and future. *Antimicrobial Stewardship & Healthcare Epidemiology : ASHE*, 2(1), e68. <https://doi.org/10.1017/ash.2022.47>
- Fajardo Loyola, A., Yareta, J., Meza-Fernández, H., Soto Pastrana, J., & Marcos Carbajal, P. (2023). Características moleculares de aislamientos de Escherichia coli y Klebsiella pneumoniae resistentes a antibióticos obtenidos de muestras de orina de pacientes con infección del trato urinario en Lima y Callao, Perú. *Revista de la Facultad de Medicina*, 71(3), 59–67.
- Gamboa, Y. L., Pellicier, Y. G., Cantillo, Y. R., & Yanez, Y. L. A. (2022). Resistencia Microbiana a los Antibióticos: Un Problema de Salud Creciente. *Revista Científica Hallazgos*21, 7(1), Article 1.

- Golsha, R., Montazeri, M., Razaghi, N., & Zade, M. E. (2021). Frequency of Beta-Lactamase Antibiotic Resistance Genes in *Escherichia Coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Ethiopian Journal of Health Sciences*, 31(3), 663–672. <https://doi.org/10.4314/ejhs.v31i3.24>
- Gonzales, E., Patiño, L., Ore, E., Martínez, V., Moreno, S., Cruzado, N. B., Rojas, R., Quispe, M. del C., Carbonell, I., Villarreal, F., Maza, G., Olivo, J., Vicuña, R., & Bustamante, D. (2019). β -lactamasas de espectro extendido tipo CTX-M en aislamientos clínicos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* en el Instituto Nacional de Salud del Niño-Breña, Lima, Perú. *Revista Medica Herediana*, 30(4), 242–248. <https://doi.org/10.20453/rmh.v30i4.3659>
- Hilarión Ñaupari, G. N. (2020). *Susceptibilidad antimicrobiana de cepas Escherichia coli O157:H7 y Escherichia coli enteropatógena aisladas en niños menores de cinco años con diarrea*. <https://repositorio.upch.edu.pe/handle/20.500.12866/8208>
- Huemer, M., Mairpady Shambat, S., Brugger, S. D., & Zinkernagel, A. S. (2020). Antibiotic resistance and persistence—Implications for human health and treatment perspectives. *EMBO Reports*, 21(12), e51034. <https://doi.org/10.15252/embr.202051034>
- Huttner, A., Bielicki, J., Clements, M., Frimodt-Møller, N., Muller, A., Paccaud, J.-P., & Mouton, J. (2019). Oral amoxicillin and amoxicillin-clavulanate: Properties, indications, and usage. *Clinical Microbiology and Infection*, 26. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.11.028>
- Jain, P., Bepari, A. K., Sen, P. K., Rafe, T., Imtiaz, R., Hossain, M., & Reza, H. M. (2021). High prevalence of multiple antibiotic resistance in clinical *E. coli* isolates from Bangladesh and prediction of molecular resistance determinants using WGS of an XDR isolate. *Scientific Reports*, 11(1), 22859. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02251-w>
- Kapoor, G., Saigal, S., & Elongavan, A. (2017). Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *Journal of Anaesthesiology, Clinical Pharmacology*, 33(3), 300–305. https://doi.org/10.4103/joacp.JOACP_349_15
- Keshi, L., Weiwei, X., Shoulin, L., Xiaodong, L., Hao, W., Junhai, J., Xiangwei, W., Rui, W., & Pei, Z. (2019). Analysis of drug resistance of extended-spectrum beta-lactamases-producing *Escherichia coli*

- and *Klebsiella pneumoniae* in children with urinary tract infection. *Saudi Medical Journal*, 40(11), 1111–1115. <https://doi.org/10.15537/smj.2019.11.24547>
- Le, H. T. T., Hoang, T. T., Nguyen, N. A. T., Nguyen, S. N., Nguyen, U. D., Hoang, C. X., Vo, N. S., Le, D. Q., Nguyen, S. H., Cao, M. D., & Ho, T. H. (2024). Whole-Genome Sequencing Reveals Temporal Trends in Antibiotic Resistance Genes in *Escherichia coli* Causing Pediatric Urinary Tract Infections in Central Vietnam. *Antibiotics*, 13(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13090830>
- Letara, N., Ngocho, J. S., Karami, N., Msuya, S. E., Nyombi, B., Kassam, N. A., Skovbjerg, S., Åhren, C., Philemon, R., & Mmbaga, B. T. (2021). Prevalence and patient related factors associated with Extended-Spectrum Beta-Lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* carriage and infection among pediatric patients in Tanzania. *Scientific Reports*, 11, 22759. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02186-2>
- Lipworth, S., Vihta, K.-D., Davies, T., Wright, S., Tabirao, M., Chau, K., Vaughan, A., Kavanagh, J., Barker, L., George, S., Segal, S., Paulus, S., Barrett, L., Oakley, S., Jeffery, K., Butcher, L., Peto, T., Crook, D., Walker, S., ... Stoesser, N. (2022). Molecular epidemiology and antimicrobial resistance phenotype of paediatric bloodstream infections caused by Gram-negative bacteria. *Communications Medicine*, 2, 101. <https://doi.org/10.1038/s43856-022-00161-0>
- Maguiña-Vargas, C., Ugarte-Gil, C. A., & Montiel, M. (2006). Uso adecuado y racional de los antibióticos. *Acta Médica Peruana*, 23(1), 15–20.
- Marcos-Carbajal, P., Salvatierra, G., Yareta, J., Pino, J., Vásquez, N., Díaz, P., Martínez, I., Asmat, P., Peralta, C., Huamani, C., Briones, A., Ruiz, M., Laura, N., Luque, Á., Arapa, L., & Tsukayama, P. (2021). Caracterización microbiológica y molecular de la resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* uropatógenas de hospitales públicos peruanos. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 38(1), 119–123. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2021.381.6182>

- Mendieta-Tello, I., Arnao-Noboa, A., Calderón-Robalino, D., & Gea-Izquierdo, E. (2023). Análisis retrospectivo de perfil microbiológico y resistencia antimicrobiana en infección urinaria pediátrica de hospitales públicos de Quito-Ecuador. *Revista Científica Salud Uninorte*, 39(1), Article 1. <https://doi.org/10.14482/sun.39.01.614.589>
- Mina Ortiz, J. B., Quimis Cañarte, J. E., Pinto Nogales, E. S., Vitonera Rogel, R. A., & Lino Villacreses, W. A. (2021). Resistencia antibiótica en bacilos Gram negativos: Betalactamasas AmpC. *Dominio de las Ciencias*, 7(3), 314–340.
- Mo, S. S., Telke, A. A., Osei, K. O., Sekse, C., Slettemeås, J. S., Urdahl, A. M., Ilag, H. K., Leangapichart, T., & Sunde, M. (2020). blaCTX-M-1/Inc11-Iy Plasmids Circulating in Escherichia coli From Norwegian Broiler Production Are Related, but Distinguishable. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00333>
- Moghnia, O. H., & Al-Sweih, N. A. (2022). Whole Genome Sequence Analysis of Multidrug Resistant Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae Strains in Kuwait. *Microorganisms*, 10(3), 507. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030507>
- Morales Barroso, I. (2020). *Caracterización epidemiológica y clínica de la infección y colonización por Escherichia coli perteneciente al complejo clonal O25b/ST131* (p. 1) [Http://purl.org/dc/dcmitype/Text, Universidad de Sevilla]. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=286574>
- Moustafa, A. M., Lal, A., & Planet, P. J. (2020). Comparative genomics in infectious disease. *Current Opinion in Microbiology*, 53, 61–70. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2020.02.009>
- Mundaca Hurtado, C. A., Ramírez Cabrera, V. K., & Reátegui Fiestas, P. de N. (2020). Resistencia antibiótica en infecciones urinarias en niños hospitalizados en el Hospital Cayetano Heredia, periodo mayo 2018—Abril 2019. <https://repositorio.upch.edu.pe/handle/20.500.12866/7822>
- Nesporova, K., Wyrsh, E. R., Valcek, A., Bitar, I., Chaw, K., Harris, P., Hrabak, J., Literak, I., Djordjevic, S. P., & Dolejska, M. (2020). Escherichia coli Sequence Type 457 Is an Emerging Extended-Spectrum- β -Lactam-Resistant Lineage with Reservoirs in Wildlife and Food-Producing

- Animals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 65(1), 10.1128/aac.01118-20.
<https://doi.org/10.1128/aac.01118-20>
- OMS. (2018). *E. coli*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>
- OMS. (2020, octubre 13). *Resistencia a los antimicrobianos*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
- OMS. (2024). *Antimicrobial Resistance, Hypervirulent Klebsiella pneumoniae—Global situation*.
<https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2024-DON527>
- Patangia, D., Ryan, A. C., Dempsey, E., Stanton, C., & Ross, R. (2021). Vertical transfer of antibiotics and antibiotic resistant strains across the mother/baby axis. *Trends in Microbiology*, 30.
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2021.05.006>
- Pereira, C. A. P., Marra, A. R., Camargo, L. F. A., Pignatari, A. C. C., Sukiennik, T., Behar, P. R. P., Medeiros, E. A. S., Ribeiro, J., Girão, E., Correa, L., Guerra, C., Carneiro, I., Brites, C., Reis, M., de Souza, M. A., Tranches, R., Barata, C. U., & Edmond, M. B. (2013). Nosocomial Bloodstream Infections in Brazilian Pediatric Patients: Microbiology, Epidemiology, and Clinical Features. *PLoS ONE*, 8(7), e68144. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068144>
- Perez-Lopez, A., Sundararaju, S., Al-Mana, H., Tsui, K. M., Hasan, M. R., Suleiman, M., Janahi, M., Al Maslamani, E., & Tang, P. (2020). Molecular Characterization of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Among the Pediatric Population in Qatar. *Frontiers in Microbiology*, 11, 581711.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.581711>
- Pietsch, M., Irrgang, A., Roschanski, N., Brenner Michael, G., Hamprecht, A., Rieber, H., Käsbohrer, A., Schwarz, S., Rösler, U., Kreienbrock, L., Pfeifer, Y., Fuchs, S., & Werner, G. (2018). Whole genome analyses of CMY-2-producing *Escherichia coli* isolates from humans, animals and food in Germany. *BMC Genomics*, 19, 601. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4976-3>

- Pitout, J. D. D., Peirano, G., Chen, L., DeVinney, R., & Matsumura, Y. (2022). *Escherichia coli* ST1193: Following in the Footsteps of *E. coli* ST131. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 66(7), e00511-22. <https://doi.org/10.1128/aac.00511-22>
- Podschun, R., & Ullmann, U. (1998). *Klebsiella* spp. as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors. *Clinical Microbiology Reviews*. <https://doi.org/10.1128/cmr.11.4.589>
- Prieto Farfan, Adriana Belén. (2024). *Frecuencia de filogrupos de Escherichia coli según fenotipo de resistencia a partir de aislamientos clínicos en pacientes pediátricos de un hospital de Lima, Perú, 2023-2024*. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/item/6abd673e-dc10-4fb7-a53c-82114d54b8fe>
- Prokop, J. W., May, T., Strong, K., Bilinovich, S. M., Bupp, C., Rajasekaran, S., Worthey, E. A., & Lazar, J. (2018). Genome sequencing in the clinic: The past, present, and future of genomic medicine. *Physiological Genomics*, 50(8), 563. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00046.2018>
- Quino, W., Mestanza, O., Caro-Castro, J., Hurtado, C. V., Gavilán, R. G., Quino, W., Mestanza, O., Caro-Castro, J., Hurtado, C. V., & Gavilán, R. G. (2020). Resistoma y genómica comparativa de aislados clínicos de *Escherichia coli* diarreogénica en Lima, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 37(4), 705–710. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2020.374.5240>
- Quiñones Pérez, D., Betancourt González, Y., Carmona Cartaya, Y., Pereda Novales, N., Álvarez Valdivia, S., Soe aung, M., Kobayashi, N., Quiñones Pérez, D., Betancourt González, Y., Carmona Cartaya, Y., Pereda Novales, N., Álvarez Valdivia, S., Soe aung, M., & Kobayashi, N. (2020). *Escherichia coli* extraintestinal, resistencia antimicrobiana y producción de betalactamasas en aislados cubanos. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 72(3). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0375-07602020000300006&lng=es&nrm=iso&tlng=en

- Ramírez Campos, A. (2019). *Caracterización molecular de enterobacterias productoras de blee aisladas en urocultivos de pacientes pediátricos hospitalizados en el Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé—2018*.
<https://repositorio.uap.edu.pe/xmlui/handle/20.500.12990/3822>
- Ramos, A. M. (2024). *USO DE TETRACICLINAS EN EDAD PEDIÁTRICA*.
- Ruiz, J., Pons, M. J., Mosquito, S., Ochoa, T. J., & Sáenz, Y. (2021). Caracterización de *Escherichia coli* D7111 productora de β -LACTAMASA TEM-176. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 38, 130–135. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2021.381.6727>
- Sánchez Gavilanes, L. K. (2023). *Análisis de secuencias de genoma completo de Escherichia coli aisladas de vegetales y comida callejera de Ecuador* [bachelorThesis, Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología. Carrera de Biotecnología].
<https://repositorio.uta.edu.ec:8443/jspui/handle/123456789/37956>
- Sánchez-Álvarez, B. P., Rincón-Zuno, J., Mejía-Caballero, L., Hernández-Castellanos, C. A., Díaz-Conde, M., Magaña-Matienzo, I., & Terrazas-Peraza, A. A. (2022). Estado actual de resistencia antimicrobiana en población pediátrica en un hospital de México. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 60(4), 371–378.
- Sands, K., Carvalho, M. J., Portal, E., Thomson, K., Dyer, C., Akpulu, C., Andrews, R., Ferreira, A., Gillespie, D., Hender, T., Hood, K., Mathias, J., Milton, R., Nieto, M., Taiyari, K., Chan, G. J., Bekele, D., Solomon, S., Basu, S., ... Walsh, T. R. (2021). Characterization of antimicrobial-resistant Gram-negative bacteria that cause neonatal sepsis in seven low- and middle-income countries. *Nature Microbiology*, 6(4), 512–523. <https://doi.org/10.1038/s41564-021-00870-7>
- SENASA. (2022). *Perfil de Riesgo de Escherichia coli O157 en carne de bovino, Perú*.
<https://www.gob.pe/institucion/senasa/informes-publicaciones/3845855-perfil-de-riesgo-de-escherichia-coli-o157-en-carne-de-bovino-peru>
- Shao, J., Dai, H., Xu, L., Zhu, S., Zhu, J., Fu, H., Ge, M., & He, X. (2023). Genomic Characteristics of Extended Spectrum β -Lactamase Producing *Escherichia coli* Isolates Recovered from a District

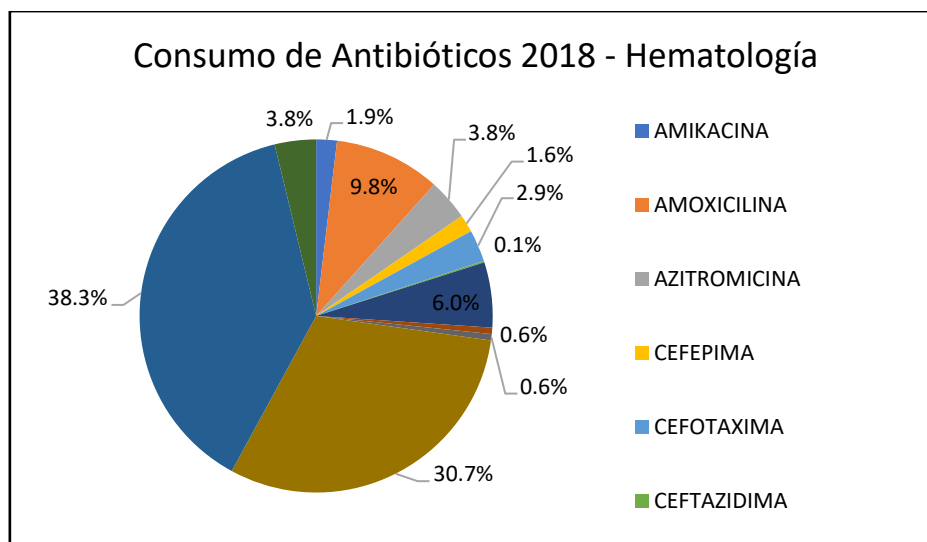
- Hospital in China. *Infection and Drug Resistance*, 16, 3589–3600.
<https://doi.org/10.2147/IDR.S415373>
- Sifuentes, W. Q., & Guerrero, J. I. A. (2021). La resistencia antimicrobiana en Perú: Un problema de salud pública. *Alpha Centauri*, 2(3), Article 3. <https://doi.org/10.47422/ac.v2i3.38>
- Sosa Flores, J. L., Chapoñan Mendoza, J. F., Sosa Flores, J. L., & Chapoñan Mendoza, J. F. (2022). Resistencia antibiótica de Escherichia coli, según producción de beta lactamasas de espectro extendido, en urocultivos. Hospital III-1. Chiclayo, Perú 2020. *Revista del Cuerpo Médico Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo*, 15(4).
<https://doi.org/10.35434/rcmhnaaa.2022.154.1627>
- Stoesser, N., Sheppard, A. E., Pankhurst, L., De Maio, N., Moore, C. E., Sebra, R., Turner, P., Anson, L. W., Kasarskis, A., Batty, E. M., Kos, V., Wilson, D. J., Phetsouvanh, R., Wyllie, D., Sokurenko, E., Manges, A. R., Johnson, T. J., Price, L. B., Peto, T. E. A., ... Grupo de Modernización de la Informática en Microbiología Médica (MMMIG). (2016). Evolutionary History of the Global Emergence of the Escherichia coli Epidemic Clone ST131. *mBio*, 7(2), 10.1128/mbio.02162-15.
<https://doi.org/10.1128/mbio.02162-15>
- Strathdee, S. A., Davies, S. C., & Marcelin, J. R. (2020). Confronting antimicrobial resistance beyond the COVID-19 pandemic and the 2020 US election. *The Lancet*, 396(10257), 1050–1053.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32063-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32063-8)
- Tafur, J. D., Torres, J. A., & Villegas, M. V. (2008). *Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas*. 3, 11.
- van Aartsen, J. J., Moore, C. E., Parry, C. M., Turner, P., Phot, N., Mao, S., Suy, K., Davies, T., Giess, A., Sheppard, A. E., Peto, T. E. A., Day, N. P. J., Crook, D. W., Walker, A. S., & Stoesser, N. (2019). Epidemiology of paediatric gastrointestinal colonisation by extended spectrum cephalosporin-resistant Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates in north-west Cambodia. *BMC Microbiology*, 19, 59. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1431-9>

- Vanegas, J. M., Parra, O. L., & Jiménez, J. N. (2016). Molecular epidemiology of carbapenem resistant gram-negative bacilli from infected pediatric population in tertiary - care hospitals in Medellín, Colombia: An increasing problem. *BMC Infectious Diseases*, 16(1), 463. <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1805-7>
- Vera-Leiva, A., Barría-Loaiza, C., Carrasco-Anabalón, S., Lima, C., Aguayo-Reyes, A., Domínguez, M., Bello-Toledo, H., & González-Rocha, G. (2017). KPC: Klebsiella pneumoniae carbapenemasa, principal carbapenemasa en enterobacterias. *Rev. chil. infectol*, 476–484.
- Vila, J., Sáez-López, E., Johnson, J. R., Römling, U., Dobrindt, U., Cantón, R., Giske, C. G., Naas, T., Carattoli, A., Martínez-Medina, M., Bosch, J., Retamar, P., Rodríguez-Baño, J., Baquero, F., & Soto, S. M. (2016). Escherichia coli: An old friend with new tidings. *FEMS Microbiology Reviews*, 40(4), 437–463. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuw005>
- Weinmaier, T., Conzemius, R., Bergman, Y., Lewis, S., Jacobs, E. B., Tamma, P. D., Materna, A., Weinberger, J., Beisken, S., & Simner, P. J. (2023). Validation and Application of Long-Read Whole-Genome Sequencing for Antimicrobial Resistance Gene Detection and Antimicrobial Susceptibility Testing. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 67(1), e0107222. <https://doi.org/10.1128/aac.01072-22>
- WHO. (2022). Un informe pone de relieve el aumento de la resistencia a los antibióticos en infecciones bacterianas que afectan al ser humano y la necesidad de mejorar los datos al respecto. <https://www.who.int/es/news/item/09-12-2022-report-signals-increasing-resistance-to-antibiotics-in-bacterial-infections-in-humans-and-need-for-better-data>
- Yang, Q., Kamat, S., Mohamed, N., Valdez, R. R., Lin, S., Su, M., Quintana, A., Kiratisin, P., Rodríguez-Zulueta, A. P., & Brink, A. (2023). Antimicrobial Susceptibility Among Gram-Negative Isolates in Pediatric Patients in Latin America, Africa-Middle East, and Asia From 2016–2020 Compared to 2011–2015: Results From the ATLAS Surveillance Study. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*, 12(8), 459–470. <https://doi.org/10.1093/jpids/piad055>

3. ANEXOS

Anexo A

Consumo de antibióticos en el área de Hematología del INSN-SB durante el 2018.



Anexo B

Consumo de antibióticos en el área de Hospitalizados del INSN-SB durante el 2018.

