



Universidad Nacional
Federico Villarreal

VRIN | VICERRECTORADO
DE INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA

FENOTIPOS DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE VARIANTES DE
COLONIAS PEQUEÑAS DE ESCHERICHIA COLI AISLADAS DE UROCULTIVOS
EN UNA CLINICA PRIVADA – 2023

Línea de investigación:
Salud pública

Tesis para optar por el título profesional de Licenciado Tecnólogo Médico
en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

Autor

Bonilla Salinas, Cesar Josue

Asesor

Guerrero Barrantes, Cesar Enrique

ORCID: 0000-0001-9427-9281

Jurado

Rivas Cárdenas, Arturo Alexander

Lazon Mansilla, David Felix

Bejarano Benites, Hector Fidel

Lima - Perú

2025

RECONOCIMIENTO - NO COMERCIAL - SIN OBRA DERIVADA
(CC BY-NC-ND)



"FENOTIPOS DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE VARIANTES DE COLONIAS PEQUEÑAS DE ESCHERICHIA COLI AISLADAS DE UROCULTIVOS EN UNA CLINICA PRIVADA – 2023"

INFORME DE ORIGINALIDAD

14%

INDICE DE SIMILITUD

13%

FUENTES DE INTERNET

6%

PUBLICACIONES

4%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	hdl.handle.net	2%
Fuente de Internet		

2	repositorio.unfv.edu.pe	1%
Fuente de Internet		

3	pesquisa.bvsalud.org	1%
Fuente de Internet		

4	Submitted to Universidad Nacional Federico Villarreal	1%
Trabajo del estudiante		

5	wrap.warwick.ac.uk	<1%
Fuente de Internet		

6	journals.plos.org	<1%
Fuente de Internet		

7	repositorio.unal.edu.co	<1%
Fuente de Internet		

dspace.esPOCH.edu.ec



FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA

FENOTIPOS DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE VARIANTES DE COLONIAS

PEQUEÑAS DE *ESCHERICHIA COLI* AISLADAS DE UROCULTIVOS EN UNA

CLINICA PRIVADA – 2023

Línea de investigación

Salud pública

Tesis para optar por el título profesional de Licenciado Tecnólogo Médico en la especialidad de
Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

Autor

Bonilla Salinas, Cesar Josue

Asesor

Guerrero Barrantes, Cesar Enrique
(ORCID: 0000-0001-9427-9281)

Jurado

Rivas Cárdenas, Arturo Alexander
Lazon Mansilla, David Felix
Bejarano Benites, Hector Fidel

Lima – Perú

2025

**Título: Fenotipos de resistencia antimicrobiana de variantes de colonias pequeñas de
Escherichia coli aisladas de urocultivos en una clínica privada - 2023**

Autor: Bonilla Salinas, Cesar Josue

Asesor

Mg. Cesar Enrique Guerrero Barrantes

INDICE

I.	INTRODUCCION	1
1.1	Descripción y formulación del problema	2
1.1.1	Descripción del problema	2
1.1.2	Formulación del problema	4
1.2	Antecedentes	5
1.3	Objetivos	10
1.3.1	Objetivo general	10
1.3.2	Objetivos específicos.....	10
1.4	Justificación	11
1.5	Hipótesis.....	12
II.	MARCO TEORICO	13
2.1	Bases teóricas sobre el tema de investigación	13
2.1.1	ITU baja.....	13
2.1.2	ITU alta	13
2.1.3	ITU no complicada.....	13
2.1.4	ITU complicada	14
2.1.5	ITU recurrente	14
2.1.6	ITU nosocomial.....	14
2.1.7	Escherichia coli.....	15
2.1.8	Diagnostico laboratorial	15
2.1.9	Pruebas complementarias	16
2.1.10	Aislamiento e identificación	16
2.1.11	Pruebas bioquímicas	17
2.1.14	Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.....	20
2.2	Variantes de colonias pequeñas (SCV).....	22
2.3	Déficit en el transporte de electrones	24
2.4	Auxotrofia.....	24
2.5	Patogénesis.....	25

III. METODO	27
3.1 Tipo de Investigación	27
3.2 Ámbito temporal y espacial.....	27
3.2.1 Delimitación espacial	27
3.2.2 Delimitación temporal.....	27
3.3 Variables	27
3.4 Población.....	29
3.4.1 Criterios de inclusión	29
3.4.2 Criterios de exclusión.....	29
3.5 Muestra	29
3.5.1 Tipo de muestreo	29
3.6 Instrumentos.....	29
3.6.1 Unidad de análisis	30
3.7 Procedimientos	30
3.8 Análisis de datos.....	30
IV. RESULTADOS	31
4.1 Resultados descriptivos.....	32
V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	40
VI. CONCLUSIONES.....	43
VII. RECOMENDACIONES.....	44
VIII. REFERENCIAS	46
IX. ANEXOS	52

ANEXOS

ANEXO A: Matriz de consistencia	53
ANEXO B: Ficha de recoleccion de datos	55
ANEXO C: Puntos de corte para metodologia de disco difusion según la guia M-100 Ed. 34, CLSI	56
ANEXO D: Permiso de la institucion para el desarrollo de la tesis	57

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Variantes de colonias pequeñas encontradas en diversas muestras clínicas.....	23
Tabla 2. Características asociadas a variantes de colonias pequeñas (SCV).....	25
Tabla 3. Operacionalización de las variables.....	28
Tabla 4. Total de urocultivos	32
Tabla 5. Evaluaciones de urocultivos positivos.....	33
Tabla 6. Urocultivos positivos a otros microorganismos	34
Tabla 7. Mecanismos de resistencia hallados	35
Tabla 8. Distribucion de mecanismos de resistencia en <i>E. coli</i> SCV	36
Tabla 9. Resultados de pruebas de sensibilidad antimicrobiana.....	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Total de urocultivos	32
Figura 2. Evaluaciones de urocultivos positivos.....	33
Figura 3. Urocultivos positivos a otros microorganismos	34
Figura 4. Mecanismos de resistencia hallados	35
Figura 5. Distribucion de mecanismos de resistencia en <i>E. coli</i> SCV	36
Figura 6. Resultados de pruebas de sensibilidad antimicrobiana	38

RESUMEN

El estudio titulado Fenotipos de Resistencia Antimicrobiana de Variantes de Colonias Pequeñas de *Escherichia coli* Aisladas de Urocultivos en una Clínica Privada – 2023. El presente estudio analizó los fenotipos de resistencia y los mecanismos de resistencia antimicrobiana de variantes de colonias pequeñas (SCV) de *Escherichia coli* en urocultivos positivos obtenidos en la Clínica Virgen del Rosario durante el año 2023. De un total de 750 urocultivos, 525 (70%) resultaron positivos y 40 (8%) identificaron *E. coli* SCV. La investigación mostró que estas cepas de SCV presentaron una alta sensibilidad a antimicrobianos como Amoxicilina/ac. Clavulánico, Gentamicina, Cefazolina, Cefepime, Ceftriaxona, Cefoxitina, Ceftazidima, Imipenem, Meropenem, Nitrofurantoína y Amikacina. Sin embargo, se observaron resistencias a Ciprofloxacino (7.5%) y Trimetoprima/sulfametoxazol (17.5%). Se detectaron dos casos de Betalactamasa de Espectro Extendido (BLEE), pero no se encontraron mecanismos de resistencia de tipo AmpC, IRT ni carbapenemasas. Estos hallazgos destacan la alta sensibilidad de las cepas SCV a la mayoría de los antimicrobianos y subrayan la importancia de realizar pruebas de susceptibilidad específicas para ajustar las estrategias terapéuticas. La alta prevalencia de BLEE sugiere un reto significativo en el tratamiento de estas infecciones, mientras que la ausencia de resistencia a carbapenemasas es alentadora. El estudio enfatiza la necesidad de protocolos de vigilancia detallados y la actualización continua de las guías de tratamiento para optimizar la gestión clínica de las infecciones urinarias causadas por *E. coli* SCV.

Palabras clave: *Escherichia coli*, variantes SCV, resistencia antimicrobiana, BLEE.

ABSTRACT

Phenotypes of Antimicrobial Resistance in Small Colony Variants of *Escherichia coli* Isolated from Urine Cultures in a Private Clinic – 2023. This study analyzed the antimicrobial resistance phenotypes and mechanisms of small colony variants (SCV) of *Escherichia coli* in positive urine cultures obtained from Clínica Virgen del Rosario during 2023. Out of 750 urine cultures, 525 (70%) were positive, and 40 (8%) identified *E. coli* SCV. The research revealed that these SCV strains exhibited high sensitivity to antimicrobials such as amoxicillin/clavulanic acid, gentamicin, cefazolin, cefepime, ceftriaxone, cefoxitin, ceftazidime, imipenem, meropenem, nitrofurantoin, and amikacin. However, resistance was observed to ciprofloxacin (7.5%) and trimethoprim/sulfamethoxazole (17.5%). Two cases of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) were detected, but no mechanisms of resistance to AmpC, IRT, or carbapenemases were found. These findings highlight the high sensitivity of SCV strains to most antimicrobials and underscore the importance of performing specific susceptibility tests to adjust therapeutic strategies. The high prevalence of ESBL suggests a significant challenge in treating these infections, while the absence of carbapenemase resistance is encouraging. The study emphasizes the need for detailed surveillance protocols and continuous updates to treatment guidelines to optimize clinical management of urinary infections caused by *E. coli* SCVs.

Keywords: *Escherichia coli*, SCV variants, antimicrobial resistance, ESBL.

I. INTRODUCCION

Escherichia coli es el uropatógeno aislado con mayor frecuencia en las infecciones del tracto urinario dentro del extenso grupo de enterobacterias clínicamente relevantes en microbiología (Echevarría *et al.*, 2006). Si bien es habitual aislar este patógeno en el laboratorio clínico, existe una falta de conocimiento sobre cómo identificar y analizar correctamente las variantes de colonias pequeñas de este microorganismo.

La mayor parte del conocimiento sobre estas variaciones proviene del estudio de colonias atípicas de *Staphylococcus aureus*, conocidas como "*small colony variants*" (SCV) en inglés. Estas variaciones tienen rasgos fenotípicos que hacen que sea difícil detectarlas mediante enfoques tanto manuales como automatizados (Zhou *et al.*, 2021). Si bien ha habido informes de variantes de colonias pequeñas (SCV) en diferentes géneros y especies, el número de investigaciones realizadas sobre estas variantes aún es limitado (Santos y Hirshfield, 2016).

Las variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* se caracterizan por deficiencias metabólicas, morfología aberrante, desarrollo limitado y otras alteraciones fenotípicas. Estos atributos pueden conducir a una identificación inexacta por parte del laboratorio de microbiología (Proctor *et al.*, 2006).

Por los motivos expuestos, es fundamental determinar la frecuencia con la que estas variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* contribuyen a las infecciones del tracto urinario, conocer los fenotipos de resistencia antimicrobiana e identificar los principales mecanismos de resistencia asociados con estas variantes. Esta información beneficiara enormemente al clínico a la hora de elegir la terapia antibiótica adecuada, reduciendo así las

posibilidades de fracaso del tratamiento, las complicaciones de la infección o incluso la mortalidad del paciente.

1.1 Descripción y formulación del problema.

1.1.1 Descripción del problema

En una escala global, las infecciones del tracto urinario constituyen una de las más frecuentemente adquiridas por el hombre. Los microorganismos más comúnmente asociados a este tipo de infecciones son las Enterobacterias, siendo *Escherichia coli* el agente causal del 80% de estas infecciones (Faz Tapia y Jaramillo, 2023).

Las variantes de colonias pequeñas o “*small colony variants*” por sus siglas en inglés “SCV” son variaciones nutricionalmente deficientes y morfológicamente atípicas de bacterias, lo cual dificulta en gran medida su aislamiento, identificación y análisis de susceptibilidad antimicrobiana. Esto se debe a su dependencia de una variedad de factores de crecimiento y a mutaciones relacionadas con la cadena de transporte de electrones (Proctor *et al.*, 2006). Estas variantes de colonias pequeñas han sido identificadas como agentes etiológicos en infecciones del tracto urinario, infecciones pulmonares en pacientes con fibrosis quística e infecciones de prótesis en pacientes de edad avanzada y en aquellos con sistemas inmunitarios comprometidos, siendo responsables de infecciones persistentes o recurrentes en este tipo de pacientes (Ramiro *et al.* 2016).

La presencia de estas variantes de colonias pequeñas plantea un desafío importante para las pruebas de identificación tanto manuales como automatizadas, ya que su metabolismo letárgico de los sustratos da como resultado reacciones inespecíficas. Esto podría dar lugar a una identificación incorrecta del microorganismo y a un perfil de susceptibilidad inadecuado, lo que podría inducir a error al médico a la hora de seleccionar la terapia adecuada (Kahl, 2013).

En la actualidad, existen investigaciones que han documentado la presencia de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en diversas cepas de variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* (Nagano *et al.*, 2020; Shivendra Dutt *et al.*, 2014; Negishi *et al.*, 2018). Sin embargo, investigaciones adicionales las han asociado con un aumento de la resistencia a los aminoglucósidos (Mowjood *et al.*, 1979; Sendi *et al.*, 2010; Hubbard *et al.*, 2021). Para determinar los fenotipos de resistencia más prevalentes y la frecuencia con la que pueden ser detectados en urocultivos positivos en los laboratorios de microbiología de la nación, es imperativo realizar investigaciones sobre la susceptibilidad antimicrobiana de estas variantes en el marco nacional.

La bacteria que se encuentra con mayor frecuencia en los urocultivos realizados en instituciones de salud públicos y privados es *Escherichia coli*. Actualmente, no hay casos documentados de variantes de colonias pequeñas (SCV) de esta bacteria en clínicas privadas ni hospitales del país. Esto implica que existe escasez de información integral sobre estas variantes a escala nacional. El personal del laboratorio de microbiología frecuentemente se encuentra con un desafío novedoso producto de la ausencia de documentación en nuestro idioma sobre el reporte, identificación y procesamiento de estas variantes y su correspondiente antibiograma.

Este problema se agrava en los laboratorios que no incorporan medios como el agar CLED, que puede rectificar las deficiencias de aminoácidos, en su protocolo de siembra primaria para detección de uropatógenos. Este medio compensa el déficit del aminoácido cisteína, deficiencia más frecuentemente observada en las variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* aisladas en los laboratorios de microbiología clínica (Borderon y Horodniceanu, 1978).

Ante la escasez de información respecto a estas variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli*, el presente estudio pretende contribuir con información actual y enmarcada en

un contexto regional sobre los fenotipos de resistencia antimicrobiana y mecanismos de resistencia presentes en estas variantes bacterianas.

1.1.2 Formulación del problema

1.1.2.1 Pregunta general.

- ¿Cuáles serán los fenotipos de resistencia antimicrobiana que presenten las variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* aisladas a partir de urocultivos de pacientes en una clínica privada durante el año 2023?

1.1.2.2 Preguntas específicas.

- ¿Cuál será la frecuencia de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) en las variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* aisladas a partir de urocultivos de pacientes en una clínica privada durante el año 2023?

- ¿Cuál será la frecuencia de betalactamasas resistentes a inhibidores (IRT) en las variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* aisladas a partir de urocultivos de pacientes en una clínica privada durante el año 2023?

- ¿Cuál será la frecuencia de betalactamasas de tipo AmpC en las variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* aisladas a partir de urocultivos de pacientes en una clínica privada durante el año 2023?

- ¿Cuál será la frecuencia de Carbapenemasas en las variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* aisladas a partir de urocultivos de pacientes en una clínica privada durante el año 2023?

1.2 Antecedentes

Park *et al.* (2018), en su investigación titulada “*Urinary tract infection caused by a small colony variant form of capnophilic Escherichia coli leading to misidentification and non-reactions in antimicrobial susceptibility tests*” reportaron el aislamiento de una variante de colonia pequeña (SCV) de *Escherichia coli* capnofílica aislada de una infección de tracto urinario en una paciente mujer de 86 años quien presentaba bacteriuria y prueba de nitrito positiva. El examen microscópico reveló cocobacilos Gram negativos. La muestra fue sembrada en agar sangre y MacConkey a 35°C en una atmósfera con 5% de CO₂. Luego de un día de incubación crecieron más de 100 000 UFC/ml de colonias Gram negativas puntiformes. Luego de otras 24 horas de incubación estas se dividieron de forma irregular entre colonias Gram negativas grandes y colonias puntiformes SCV.

Mientras que el sistema VITEK 2 (bioMérieux, Durham, USA) identificó estas colonias puntiformes como *Burkholderia cepacia* grupo, los sistemas Bruker biotyper (Bruker Daltonics, Leipzig, Alemania) y VITEK MS (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Francia) identificaron ambas colonias como *Escherichia coli*. La secuenciación del rRNA 16S concluyó que, en efecto, ambas colonias eran *E. coli*. Ya que estos sistemas automatizados fueron incapaces de incubar las variantes SCV capnofílicas de *E. coli*, la sensibilidad antimicrobiana se realizó mediante el método de disco difusión, hallándose solo resistencia a Levofloxacino.

Nagano *et al.* (2020), en su investigación titulada “*Isolation of thymidine-dependent and extended-spectrum-beta-lactamase-producing Escherichia coli small-colony variant from urine of a septuagenarian female patient with recurrent cystitis: A case report with genetic investigation*” informaron el aislamiento de una SCV de *E. coli* en una paciente septuagenaria en hemodiálisis, quien sufría de cistitis recurrente con disuria y hematuria. Su orina presentó un color naranja, aspecto turbio y mostró células Gram negativas de aspecto cocoide en la coloración Gram de la

orina. Una *E. coli* productora de BLEE y morfológicamente típica fue aislada de su urocultivo. Adicionalmente, una tomografía computarizada (TC) renal mostro pequeños cálculos en ambos riñones.

Al paciente se le administro trimetoprim/sulfametoxazol (SXT) con comprimidos de 160 mg/día de trimetoprim y 800 mg/día de sulfametoxazol por vía oral y de forma intermitente cada vez que presentaba síntomas relacionados a cistitis. En diciembre de 2018, se aisló una SCV de *E. coli* dependiente de timidina productora de BLEE. Esta SCV de *E. coli* dependiente de timidina mostro colonias más traslucidas y aplanadas que la *E. coli* morfológicamente típica en el agar sangre a las 24 horas de incubación, en el agar MacConkey la SCV de *E. coli* mostro colonias puntiformes y pequeñas. Además, el aislamiento de SCV de *E. coli* creció solo alrededor del papel filtro conteniendo 10 ug de timidina en el agar Mueller-Hinton.

El sistema Vitek 2 identifico a estas colonias pequeñas dependientes de timidina como *E. coli* con un 99% de probabilidad. Mediante el método molecular de secuenciación del ARNr 16S se confirmó la identificación. El tamizaje de susceptibilidad antimicrobiana fue realizado por disco difusión usando cefotaxima (30ug) en agar sangre. Tanto la colonia SCV como la morfológicamente típica de *E. coli* resultaron resistentes a cefotaxima. La concentración mínima inhibitoria (MIC) de ambas cepas fue determinada mediante dilución en caldo (para la cepa SCV, se suplemento con timidina 1ug/ml). Las susceptibilidades fueron interpretadas de acuerdo con los criterios de las guías M100 y S22 de CLSI. Se confirmo la producción de BLEE por parte de ambos aislamientos usando la prueba de sinergia de doble disco de acuerdo con los criterios de las guías M100 y S22 de CLSI. Los discos combinados fueron: Cefpodoxima (10ug), Ceftazidima (30ug), Cefotaxima (30ug) y Amoxicilina/Acido clavulánico (20ug/10ug).

Finalmente se examinó la clonalidad genética entre la SCV de *E. coli* dependiente de timidina y la *E. coli* morfológicamente típica mediante técnicas basadas en PCR, confirmando así su identidad clonal.

Shivendra Dutt *et al.* (2014), en su investigación titulada “*Small colony variant of Escherichia coli isolated from a recurrent urinary tract infection – a case report*” reportaron que, en un paciente varón de 2 años, el cual sufría de reflujo vesicouretral bilateral de grado 5, tras ser tratado quirúrgicamente mediante reimplante bilateral de uréter se le aisló una *E. coli* bajo sospecha de infección urinaria.

La orina obtenida por chorro medio enviada al laboratorio fue procesada por los métodos estandarizados. La microscopia directa de la orina teñida con Gram reveló numerosos leucocitos y bacilos Gram negativos, el cultivo semicuantitativo mostró un recuento mayor a 100 000 UFC/ml de colonias pequeñas luego de 24 horas de incubación. En el agar MacConkey se observaron colonias puntiformes fermentadoras de lactosa, las cuales, pese a incubarlas por 72 horas no variaron en tamaño, las colonias aisladas fueron tomadas para su identificación y caracterización fenotípica. Los aislamientos fueron bacilos Gram negativos, inmóviles, reacción de catalasa y oxidasa fueron negativas, la glucosa fue fermentada con producción de ácido y gas, las pruebas de indol, rojo de metilo y reducción de nitratos dieron positivo mientras que los azúcares tales como lactosa, manitol y xilosa fueron fermentados mientras que sucrosa y sorbitol no, la lisina no fue descarboxilada, las colonias fueron sospechosas de ser SCV de *E. coli*. La identificación posterior fue confirmada usando métodos automatizados (Vitek 2 compact, Biomerieux, Francia). El resultado obtenido fue de *Escherichia coli* con un porcentaje de similitud del 99% y la prueba de susceptibilidad antimicrobiana fue realizada por el método de disco difusión de Kirby – Bauer de acuerdo con las guías de CLSI.

El aislamiento fue identificado como SCV de *E. coli*, el cual no creció en agar Mueller – Hinton, por lo cual la prueba se realizó en agar Mueller – Hinton suplementado con 5% de sangre humana. Los resultados indicaron resistencia a Cefuroxima (30 ug), Norfloxacin (10 ug), Ampicilina (10 ug), Ceftriaxona (30 ug), Nitilmicina (30 ug), Amoxicilina/Acido clavulánico (20/10 ug), Amikacina (30 ug), Aztreonam (30 ug), Gentamicina (10 ug) y Cefepime (30 ug) mientras que fue sensible a Imipenem (10 ug), Cotrimoxazol (1,25 – 23,75 ug), Piperacilina/Tazobactam (100/10 ug) y Cefoperazona/Sulbactam (75/30 ug). Según la lectura interpretada del antibiograma el aislamiento fue identificado como un productor de BLEE. La repetición del cultivo y prueba de sensibilidad mostraron los mismos resultados.

McIver y Tapsall (1991), en su investigación titulada “*In Vitro Susceptibilities of Clinical Isolates of Cysteine-Requiring Escherichia coli to 12 Antimicrobial Agents*” informaron que las concentraciones inhibitorias mínimas (MICs) de los agentes antimicrobianos para 42 cepas de *Escherichia coli* dependiente de cisteína (SCV – CD) mostraron alta concordancia al ser determinados en 3 medios diferentes (agar Sensitest suplementado con cisteína, agar Isosensitest y agar Mueller Hinton). Se evaluaron las diferencias de MICs en 18 cepas auxotróficas a cisteína y sus pares reversores prototrofos realizando las pruebas de susceptibilidad en agar Sensitest suplementado con cisteína, agar Isosensitest y agar Mueller Hinton por duplicado. Se evidencio alta concordancia de resultados en cuanto a sensibilidad de estas cepas a los 12 agentes antimicrobianos, el 24% de los aislamientos fueron resistentes a Ampicilina y Tetraciclina, una proporción menor fue resistente a Kanamicina, Amoxicilina / Acido clavulánico, Acido nalidixico y Cloranfenicol, todas las cepas fueron sensibles a otros Aminoglucósidos, Cefotaxima y Norfloxacin y 64.3% fueron totalmente sensibles a todos los antimicrobianos.

No se detectó ningún patrón de resistencia entre las 15 cepas que fueron resistentes a uno o más antimicrobianos, 15 de las cepas auxotróficas a cisteína fueron incubadas durante 72 horas para obtener reversores prototrofos. Los MICs de ambas variantes fueron evaluados usando la técnica de disco difusión y posteriormente comparados, los MICs de las variantes de colonias pequeñas fueron mayores para aminoglucósidos y quinolonas, mientras que no hubo diferencias en betalactámicos y Tetraciclina.

Trülsch *et al.* (2003), en su investigación titulada “*Highly Resistant Metabolically Deficient Dwarf Mutant of Escherichia coli Is the Cause of a Chronic Urinary Tract Infection*” reportaron el aislamiento de una *Escherichia coli* metabólicamente deficiente causante de infección urinaria recurrente en un periodo de 7 años. La paciente era una mujer de 68 años con historial de diabetes mellitus insulino dependiente desde su infancia, hipercolesterolemia, hipertensión, neuropatía y nefropatía. Las muestras procesadas en el laboratorio mostraron colonias pequeñas y lactosa negativas en agar MacConkey a las 24 horas de incubación, luego de 48 horas se observaron algunas colonias grandes lactosa positivas.

Todos los aislamientos fueron citocromo oxidasa negativos, fermentadores de glucosa y en la coloración Gram se apreciaron como cocos Gram negativos. El análisis bioquímico de los aislamientos se realizó con el sistema API 20E y repetidamente identifique erróneamente los aislamientos como: *Yersinia*, *Burkholderia*, *Shigella* y *Hafnia* con perfiles bioquímicos inaceptables. Sin embargo, el secuenciamiento del ADNr 16S realizado a ambos tipos de colonias los identifique como *Escherichia coli*. La auxotrofia a los aminoácidos fue probada en el medio M9 suplementado con 0.2% de glucosa y los siguientes aminoácidos: alanina, cisteína, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano, valina y tirosina usando discos de papel impregnados. Demostrándose que los 2 primeros aislamientos eran auxotróficos

únicamente a histidina, mientras que los demás lo eran a más de 2 aminoácidos, los cuales no pudieron ser plenamente identificados.

En cuanto a la sensibilidad antimicrobiana, todos los aislamientos fueron resistentes a: Ampicilina, Piperacilina, Tobramicina, Trimetoprim/Sulfametoxazol, Tetraciclina, Levofloxacino y Ciprofloxacino. Mientras que fueron sensibles a: Ceftazidima, Cefotaxima, Ceftriaxona, Meropenem y Amoxicilina/Acido Clavulánico. Las concentraciones inhibitorias mínimas (MICs) de Piperacilina/Tazobactam, Gentamicina y Tobramicina fueron ligeramente menores en las colonias grandes y típicas en comparación con las colonias pequeñas de *Escherichia coli*.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

- Determinar los fenotipos de resistencia antimicrobiana que presenten las variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* aisladas a partir de urocultivos de pacientes en una clínica privada durante el año 2023.

1.3.2 Objetivos específicos

- Determinar la frecuencia de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) en las variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* aisladas a partir de urocultivos de pacientes en una clínica privada durante el año 2023.

- Determinar la frecuencia de Betalactamasas Resistentes a Inhibidores (IRT) en las variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* aisladas a partir de urocultivos de pacientes en una clínica privada durante el año 2023.

- Determinar la frecuencia de betalactamasas de tipo AmpC en las variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* aisladas a partir de urocultivos de pacientes en una clínica privada durante el año 2023.
- Determinar la frecuencia de carbapenemasas en las variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* aisladas a partir de urocultivos de pacientes en una clínica privada durante el año 2023.

1.4 Justificación

Actualmente, existe una limitada información acerca de los fenotipos de resistencia antimicrobiana de las variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* responsables de infecciones del tracto urinario, así como los principales mecanismos de resistencia a los antimicrobianos presentes en estas variantes. Además, se desconoce la frecuencia con la que estas variantes actúan como agentes etiológicos en las infecciones del tracto urinario. Esta investigación es fundamental para identificar y evaluar los fenotipos de resistencia antimicrobiana, así como los principales mecanismos de resistencia a los antimicrobianos presentes en estas variantes a nivel nacional. Esto contribuirá al desarrollo de protocolos y manuales operativos basados en los hallazgos obtenidos.

Este estudio no solo garantizará una interpretación precisa del antibiograma, sino que también permitirá un análisis exhaustivo de los mecanismos de resistencia antimicrobiana más relevantes en las variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli*. Comprender estos mecanismos es esencial para optimizar las decisiones terapéuticas, asegurando tratamientos efectivos y personalizados para pacientes con infecciones del tracto urinario. Además, al identificar patrones de resistencia, será posible implementar estrategias preventivas para mitigar la propagación de cepas resistentes en ambientes clínicos.

1.5 Hipótesis

Esta investigación es de tipo correlacional, por lo que no se plantea hipótesis.

II. MARCO TEORICO

2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación

La infección del tracto urinario es la afección en la que se encuentran gérmenes patógenos en el sistema urinario, con o sin síntomas. Ocupa la segunda infección más prevalente en humanos, detrás de las infecciones respiratorias (Andreau *et al.*, 2010; Echevarria *et al.*, 2006; Zboromyrska *et al.*, 2019).

Las infecciones de tracto urinario (ITU) pueden clasificarse en:

2.1.1 ITU baja

Esto hace referencia a la existencia de bacterias patógenas en la uretra y la vejiga, conocidas como uretritis y cistitis, respectivamente. Estas afecciones suelen ir acompañadas de síntomas comunes como dolor al orinar, aumento de la micción, orina turbia y mal olor (Echevarria *et al.*, 2006).

2.1.2 ITU alta

Se distingue por la presencia de bacterias patógenas en el tracto ureteral y el parénquima renal, esta afección es denominada pielonefritis. Además de los síntomas de ITU baja, pueden aparecer escoliosis, dolor de espalda, náuseas, vómitos y fiebre. (Echevarría *et al.*, 2006).

2.1.3 ITU no complicada

Estas infecciones ocurren en pacientes sin anomalías en el tracto urinario y se limitan a la uretra o la vejiga (ITU baja) (Echevarria *et al.*, 2006).

2.1.4 ITU complicada

La susceptibilidad del paciente a la ITU complicada puede verse influenciada por factores como anomalías anatómicas, alteraciones funcionales, inmunosupresión y terapia previa inadecuada. Esto puede incluir una amplia gama de afecciones, como cistitis compleja, pielonefritis y/o shock séptico (Echevarria *et al.*, 2006).

2.1.5 ITU recurrente

Se considera que existe una infección recurrente del tracto urinario cuando son más de tres episodios de la infección los que ha manifestado el paciente en un solo año (Echevarría *et al.*, 2006).

2.1.6 ITU nosocomial

Una infección nosocomial del tracto urinario es una infección que se presenta más de 48 horas después del ingreso de un paciente al hospital, sin ningún signo previo de infección. Este tipo de infección suele estar relacionado con procedimientos invasivos como el cateterismo urinario (Echevarria *et al.*, 2006).

Escherichia coli es la causa principal de infecciones del tracto urinario (ITU) que son complicadas, no complicadas y adquiridas en entornos de atención médica y afectan tanto a hombres como a mujeres. Después de *Escherichia coli*, otros agentes causales comunes incluyen *Klebsiella spp*, *Proteus spp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp*, *Enterococcus spp*, *S. saprophyticus*, *S. aureus*, *M. morganii* y *S. agalactiae* (Comité de Microbiología clínica, 2001).

2.1.7 *Escherichia coli*

La bacteria es Gram negativa, catalasa positiva y oxidasa negativa. Tiene un diámetro estimado de 1,0 a 1,5 μm y una longitud de 2,1 a 6,0 μm . Tiene la capacidad de sobrevivir con o sin oxígeno y puede o no moverse, dependiendo de si tiene flagelos peritricos. Es un constituyente de la microbiota que habita en el sistema gastrointestinal humano, estableciéndose allí inmediatamente después del nacimiento (Echevarría *et al.*, 2006).

2.1.7.1 Morfología de colonias. *Escherichia coli*, al igual que la mayoría de las enterobacterias, forma colonias circulares, convexas y lisas con bordes bien definidos (Rodríguez G., 2002).

2.1.7.2 Características bioquímicas. Sus características bioquímicas incluyen la fermentación de carbohidratos como glucosa, lactosa y sacarosa, producción de gas, descarboxilación de lisina, capacidad para producir indol a partir de triptófano, incapacidad para utilizar citrato como fuente de carbono y generalmente, incapacidad para producir sulfuro de hidrógeno (H_2S) (Rodríguez G., 2002).

2.1.8 Diagnóstico laboratorial

El urocultivo es la técnica establecida que se utiliza para diagnosticar infecciones del tracto urinario y debe tener la capacidad de detectar y cuantificar el microorganismo específico responsable de la infección. Además, es importante diferenciar entre microorganismos contaminantes y patógenos en cultivos que presentan muchas morfologías bacterianas. Finalmente, evaluar la susceptibilidad del aislamiento frente a antimicrobianos de importancia clínica (Clinical Microbiology Committee, 2001).

2.1.9 Pruebas complementarias

2.1.9.1 Tinción Gram. La tinción Gram es un método rápido, económico y accesible con adecuada sensibilidad y especificidad para detectar bacteriuria. Consiste en depositar una muestra de orina recién agitada y sin centrifugar sobre un portaobjetos, que luego se tiñe sucesivamente con cristal violeta, lugol, decolorante Gram y safranina. Posteriormente, se examina bajo objetivo de inmersión para identificar morfologías bacterianas y la presencia de células inflamatorias en la muestra (Andreau *et al.*, 2010).

2.1.9.2 Detección de actividad nitrato reductasa. Se utiliza sistemas comerciales capaces de detectar la reducción de nitratos a nitritos mediante la acción de la enzima nitrato reductasa, utilizando tiras reactivas que entran en contacto con la muestra de orina. Aunque esta prueba tiene una sensibilidad relativamente baja, su especificidad es alta, lo que la convierte en un método con un alto valor predictivo negativo (Andreau *et al.*, 2010).

2.1.10 Aislamiento e identificación

El método convencional de aislamiento implica sembrar directamente las muestras de orina utilizando un asa estéril calibrada de 1 µl para muestras obtenidas mediante métodos no invasivos (p. ej., chorro medio, catéter) y un asa estéril de 10 µl para muestras obtenidas mediante métodos invasivos (p. ej., punción suprapúbica). Las muestras se siembran en placas de agar sangre y agar MacConkey para ser incubadas a 37 °C durante 18 a 24 horas (Andreau *et al.*, 2010; Zboromyrska *et al.*, 2019).

Diversos protocolos incorporan medios diferenciales para facilitar la identificación presuntiva de los uropatógenos más comunes, como el agar cromogénico (CHROMagar Orientation) y el agar Cistina Lactosa Deficitario en Electrolitos (CLED). Se realizan pruebas

adicionales, como la tinción de Gram y pruebas bioquímicas, para confirmar la identificación presuntiva de colonias sospechosas de ser *Escherichia coli*. (Zboromyrska *et al.*, 2019).

2.1.11 Pruebas bioquímicas

2.1.11.1 Agar TSI (Triple Sugar Iron). El medio TSI se utiliza para determinar la capacidad de la bacteria para fermentar glucosa, lactosa y sacarosa en proporciones específicas. El indicador de pH (rojo de fenol) y la formación de sulfuro ferroso permiten evaluar la producción de sulfuro de hidrógeno (H₂S). Un tubo completamente amarillo indica fermentación de los tres carbohidratos, mientras que un tubo rojo en la superficie y amarillo en su fondo, indica solo capacidad para fermentar glucosa. Por otro lado, si el color del medio no varía indicara que la bacteria es incapaz de fermentar glucosa, y por ende, los otros carbohidratos (Lopardo *et al.*).

2.1.11.2 Agar LIA (Lisina Hierro). El medio LIA contiene glucosa que, al fermentarse, acidifica el medio, facilitando la descarboxilación de la lisina a cadaverina, lo que aumenta el pH y cambia el color del indicador, púrpura de bromocresol. Organismos que no descarboxilan la lisina, pero fermentan la glucosa, muestran un segmento alcalino (color lila) y un segmento ácido en el fondo (amarillo). Algunas bacterias, como ciertas especies de Proteaeae, producen un color rojo debido a la desaminación de la lisina (Lopardo *et al.*).

2.1.11.3 Agar Citrato de Simmons. Este medio diferencia las especies de Enterobacteriaceae según su capacidad para utilizar citrato como fuente única de carbono. La degradación del citrato alcaliniza el medio, cambiando su color a azul intenso gracias al indicador de pH, azul de bromotimol (Guillen y Bravo, 2018).

2.1.11.4 Medio MIO (Motilidad Indol Ornitina). El medio MIO se utiliza para evaluar la motilidad, producción de indol y descarboxilación de ornitina por parte de las bacterias. La

fermentación de la glucosa acidifica el medio, proporcionando condiciones óptimas para la descarboxilación de la ornitina, lo que vuelve a alcalinizar el medio y cambia el color de este de amarillo a púrpura. Organismos inmóviles solo crecen a lo largo de la línea de inoculación (Guillen y Bravo, 2018).

2.1.11.5 Prueba de Indol. Los microorganismos positivos a la prueba de indol generan un color rosado o rojizo cuando interactúan con el reactivo de Kovacs, debido a la presencia de triptófano en su composición, demostrando así la capacidad del microorganismo para producir indol (Guillen y Bravo, 2018).

2.1.12 Estudio de susceptibilidad antimicrobiana

La susceptibilidad a los antimicrobianos se evalúa mediante técnicas convencionales, como la prueba de difusión en disco de Kirby-Bauer y sistemas de microdilución automatizados. La prueba de difusión en disco se utiliza para proporcionar las categorías de sensible, intermedio y resistente en base a la interpretación de la lectura de los halos de inhibición de los discos de antibióticos. Por otro lado, la microdilución es un método que permite determinar las concentraciones mínimas inhibitorias (CIM) de cada antibiótico contemplado en el antibiograma (Calvo *et al.*, 2011).

Los antibióticos recomendados para el estudio en Enterobacterales, excluyendo *Salmonella spp* y *Shigella spp*, incluyen Ampicilina, Cefazolina, Cefotaxima o Ceftriaxona, Amoxicilina/Ac. Clavulánico, Piperacilina/Tazobactam, Gentamicina, Ciprofloxacina, Trimetoprim/Sulfametoxazol, Cefuroxima, Cefepima, Ertapenem, Meropenem, Imipenem, Amikacina, Tetraciclina y Nitrofurantoína para aislamientos de infecciones del tracto urinario (CLSI, 2023).

Las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana realizadas a estos antibióticos deben interpretarse con base en los puntos de corte establecidos por las respectivas entidades: EUCAST (European Committee on Antimicrobianus Susceptibility Testing) en Europa y CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) en el continente americano (Bertran *et al.*, 2020; Calvo *et al.*, 2011).

2.1.13 Resistencia antimicrobiana

La resistencia antimicrobiana se refiere a la capacidad de un microorganismo para sobrevivir a la acción de un antibiótico, generalmente debido a alteraciones genéticas que pueden involucrar sobreexpresión de enzimas o adquisición de genes que codifican enzimas capaces de degradar antibióticos. En *Escherichia coli*, se han observado frecuentemente los siguientes mecanismos de resistencia (Calvo *et al.*, 2011):

2.1.13.1 *Betalactamasas resistentes a inhibidores (IRT)*. Las betalactamasas son enzimas comúnmente encontradas en *E. coli* que pueden hidrolizar aminopenicilinas y carboxipenicilinas, resistiendo el efecto inhibitorio de amoxicilina/ácido clavulánico y otros inhibidores. Estas enzimas no afectan a otros betalactámicos (Calvo *et al.*, 2011).

2.1.13.2 *Betalactamasas de espectro extendido (BLEE)*. Estas enzimas hidrolizan el anillo betalactámico de los antibioticos, afectando penicilinas, cefalosporinas y monobactámicos. Son susceptibles a cefamicinas, carbapenémicos y a los inhibidores de betalactamasas. Los genes que codifican estas enzimas suelen hallarse en plásmidos transferibles y con frecuencia muestran resistencia cruzada a otros antibióticos como aminoglicósidos y quinolonas (Calvo *et al.*, 2011).

2.1.13.3 *Betalactamasas de tipo AmpC*. Estas enzimas hidrolizan cefalosporinas de primera y segunda generación, algunas cefamicinas y son menos eficaces frente a cefalosporinas

de tercera generación. No afectan a las cefalosporinas de cuarta y quinta generación ni a los carbapenémicos. La expresión puede ser constitutiva o inducible, dependiendo del gen blaAmpC, que a menudo se encuentra en plásmidos transferibles (Calvo *et al.*, 2011).

2.1.13.4 Carbapenemasas. Enzimas capaces de hidrolizar eficazmente antibióticos como las cefalosporinas, de primera a quinta generación, cefamicinas, inhibidores de betalactamasas y carbapenémicos. Los genes responsables de su producción también se han localizado en plásmidos transferibles, existiendo actualmente hasta 27 variantes de estas enzimas. Las más importantes son las variantes IMP y VIM, que presentan un perfil hidrolítico que abarca todos los antibióticos betalactámicos, con excepción del aztreonam. Estas enzimas sólo pueden inhibirse mediante agentes quelantes de calcio, como EDTA o ácido dipicolínico. Otra carbapenemasa importante es la NDM-1, que presenta un perfil de multiresistencia en los aislamientos que la producen. Como esta enzima no solo ha sido descrita en enterobacterias sino también en especies del género *Acinetobacter*, se cree que el gen codificador de esta carbapenemasa puede estar presente en plásmidos (Calvo *et al.*, 2011). Por último, las carbapenemasas de tipo KPC tienen un perfil de resistencia efectivo contra cefalosporinas, carbapenémicos y penicilinas, siendo solo inhibidas por el ácido borónico (Calvo *et al.*, 2011).

2.1.14 Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana

2.1.14.1 Métodos convencionales. Los métodos empleados con mayor frecuencia son: difusión en disco (Kirby-Bauer) y los dispositivos de microdilución automatizados. El método de difusión en disco se restringe a la identificación de las categorías Sensible, Intermedio y Resistente, mientras que los dispositivos de microdilución permiten evaluar

las concentraciones mínimas inhibitorias (MIC) para cada antibiótico analizado (Zboromyrska Y. *et al.*, 2019).

La adaptabilidad del método de difusión en disco es una ventaja significativa, ya que permite evaluar las cantidades y seleccionar antibióticos específicos en relación con el agente etiológico de la infección urinaria. Este enfoque garantiza que los discos estén colocados de manera que facilite la identificación de mecanismos de resistencia mediante el uso de características observables. Los sistemas de microdilución pueden leerse e interpretarse mecánicamente (Zboromyrska Y. *et al.*, 2019). En Europa, el análisis de los hallazgos debe cumplir con las directrices establecidas por las instituciones de referencia pertinentes, a saber, EUCAST (*Comité Europeo sobre Pruebas de Susceptibilidad a los Antimicrobianos*) y CLSI (Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio) M100 *Performance Standards for Antimicrobianus Susceptibility Testing* en América. Independientemente de la tecnología utilizada, se deben seguir estas pautas (Zboromyrska Y. *et al.*, 2019).

2.1.14.2 Disco difusión. Se basa en la inoculación completa de una placa de agar Mueller Hinton con una suspensión de 0.5 McFarland de la bacteria a evaluar y, posteriormente, depositar discos de papel secante impregnados con concentraciones estandarizadas de los diferentes antibióticos que se desea analizar. El contacto entre los discos de papel y la superficie húmeda del agar permite a los antibióticos difundir sobre este último formando una gradiente de concentración (Cantón R. *et al.*, 2000).

Tras una incubación de 18 a 24 horas aproximadamente se aprecian los halos de inhibición cuyos diámetros deberán interpretarse de acuerdo con la guía de las instituciones referentes,

CLSI M100, para obtener las categorías de sensible, intermedio o resistente (Cantón R. *et al.*, 2000).

2.1.14.3 Método de microdilución. Estos métodos están basados en la determinación del crecimiento del microorganismo en presencia de concentraciones crecientes del antimicrobiano diluido en el medio de cultivo, ya sea caldo o agar. El uso de micropipetas y de placas de microtitulación facilita la implementación de la metodología de microdilución en caldo, actualmente los sistemas comerciales automatizados de microdilución permiten la integración de sistemas de lectura e interpretación de resultados (Cantón R. *et al.*, 2000).

2.2 Variantes de colonias pequeñas (SCV).

Las variantes de colonias pequeñas (SCV) son un subconjunto de bacterias de crecimiento lento que exhiben características fenotípicas y patógenas únicas. Estas variantes se caracterizan por un crecimiento lento, colonias morfológicamente atípicas y características bioquímicas peculiares, las cuales suponen un desafío para los microbiólogos clínicos (Johns *et al.*, 2015; Tapsall & McIver, 1986).

Las SCV (variantes de colonias pequeñas) se observan clínicamente en entornos estresantes o después de tratamientos prolongados con antibióticos (Maskell *et al.*, 1978; Shivendra Dutt *et al.*, 2014). En comparación con sus homólogos salvajes, responden menos al tratamiento con antibióticos (Ramiro *et al.* 2016). Además, demuestran una reducción sustancial en su capacidad patógena, como lo demuestra una producción desigual de factores de virulencia y la capacidad de causar infecciones recurrentes, latentes y crónicas (Johns *et al.*, 2015; Tappe *et al.*, 2006).

Estas variantes de colonias pequeñas, que se clasifican en una variedad de géneros y especies como se muestra en la Tabla 1, se han detectado en una variedad de muestras clínicas,

incluidos abscesos, sangre, huesos, tracto respiratorio y tejidos blandos. Tienen una afinidad particular por los pacientes geriátricos y debilitados.

Tabla 1.

Variantes de colonias pequeñas encontradas en diversas muestras clínicas.

Microorganismo	Tipo o sitio de infección
<i>Brucella melitensis</i>	Hemocultivo
<i>Burkholderia cepacia</i>	Aspirado broncoalveolar
<i>Escherichia coli</i>	Urocultivo, Coprocultivo
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Coprocultivo
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Hisopado uretral
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Lavado broncoalveolar
<i>Salmonella spp</i>	Coprocultivo

Adaptado de “Small colony variants: a pathogenic form of bacteria that facilitates persistent and recurrent infections” por Proctor *et al.*, 2006, *Nature Reviews Microbiology*. 4(1).

Estudios recientes sobre el metabolismo bacteriano han revelado que el déficit de aminoácidos específicos está asociado con cambios en las rutas metabólicas y energéticas, así como también a una mayor resistencia frente a antimicrobianos aminoglucósidos. Estos cambios son el resultado de ciertas mutaciones puntuales en el genoma, las cuales fomentan la aparición de las variantes de colonias pequeñas (Johns *et al.*, 2015; Negishi *et al.*, 2018). En consecuencia, se han descrito mutaciones tales como un déficit en el transporte de electrones y déficit de aminoácidos (hemina, tiamina, menaquinona, etc.) (Gao *et al.*, 2022).

2.3 Déficit en el transporte de electrones

Este rasgo puede estar causado por diferentes mutaciones en genes como *menD*, *hemB* y *ctaA*, que impiden la expresión de dos elementos esenciales del transporte de electrones: el sintetizador de menadiona, que afecta al sintetizador de menaquinona, y el hemo, que interviene en la biosíntesis del citocromo. Las alteraciones en el gen *ctaA* impiden la producción de hemoglobina y también afectan la síntesis de citocromo (Johns *et al.*, 2015; Proctor *et al.*, 2006).

HemA es una enzima crucial en el transporte de electrones que inicia la síntesis de porfirina y la creación de hemoglobina, que es vital para la respiración. La identificación de polimorfismos en esta enzima se ha relacionado con la aparición de variantes de colonias pequeñas en bacterias, incluidas *Salmonella*, *Listeria* y *E. coli* (Hubbard *et al.*, 2021; Maskell *et al.*, 1978).

2.4 Auxotrofia

Se han informado varias carencias de aminoácidos, siendo la más común la deficiencia de cisteína, que está asociada a mutaciones en el operón *cysH*. Este operón desempeña un papel crucial en la síntesis de cisteína y la asimilación de sulfatos (Zboromyrska *et al.*, 2019). La deficiencia de timidina está relacionada con mutaciones en el gen *thyA*, que interviene en la enzima timidilato sintasa (Zhou *et al.*, 2021). Por último, la deficiencia de histidina se ha descrito en raras ocasiones y los mecanismos responsables no están claramente identificados (Trulzsch *et al.*, 2003).

Las alteraciones fenotípicas y genotípicas adicionales se muestran en la Tabla 2.

Ciertas variaciones exhiben alteraciones genéticas irreversibles, mientras que otras poseen la capacidad de volver a su fenotipo habitual, a menudo conocido como "tipo salvaje" (WT), o adoptar un fenotipo diferente de los dos antes mencionados. El efecto de la fuente de estrés

ambiental sobre el potencial de alteraciones genéticas irreversibles, en lugar de revertir los cambios fenotípicos, parece ser importante (Johns *et al.*, 2015; Proctor *et al.*, 2006).

Tabla 2.

Características asociadas a variantes de colonias pequeñas (SCV)

GEN	PROTEINA	FUNCION	VARIACION	ORGANISMOS
Alteración de la interacción con el receptor				
<i>clfA</i>	Factor de agrupamiento A	Unión al fibrinógeno	Incremento de la expresión de <i>hemB</i>	<i>Staphylococcus sp.</i>
<i>fnb</i>	Proteína fijadora de fibronectina	Fijación de fibronectina	Incremento de la expresión de <i>hemB</i>	
<i>spa</i>	Proteína A	Inhibe la fagocitosis	Transcripción reducida en SCV	
Alteración de biosíntesis y vías enzimáticas				
<i>hemL</i>	Glutamato 1-semialdehido aminotransferasa	Biosíntesis de porfirina	Interrupción del gen por infección persistente.	<i>Staphylococcus spp.</i>
<i>hemB</i>	Porfobilinogeno sintasa	Biosíntesis de porfirina	Interrupción del gen por infección persistente.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>thyA</i>	Timidilato sintasa	Cataliza la conversión de deoxirudina monofosfato (dUMP) a deoxitimidina monofosfato (dTMP)	Mutaciones varias causan auxotrofia a timidina	<i>Escherichia coli</i>
				<i>Salmonella enterica</i> sv. Typhimurium
				<i>Enterococcus spp.</i>
				<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
				<i>Staphylococcus aureus</i>
				<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
				<i>Enterococcus spp.</i>
				<i>Escherichia coli</i>

Adaptado de “Phenotypic and Genotypic Characteristics of Small Colony Variants and their role in chronic infection” por Johns *et al.*, 2015, *Microbiology Insights*. 8(1).

2.5 Patogénesis

Las variantes de colonias pequeñas pueden adherirse a las células huésped casi de la misma manera que sus contrapartes típicas. La diferencia más notable es que las variantes de colonias

pequeñas pueden expresar una mayor cantidad de adhesinas en su superficie, lo que permite una interacción más efectiva con las células huésped (Proctor *et al.*, 2006). Al igual que las formas comunes de *E. coli*, las variantes de colonias pequeñas inducirán cambios en las células huésped, lo que permitirá la internalización de microorganismos.

Estas variantes pueden multiplicarse dentro de las células de manera exitosa, lo cual tiene un impacto directo en el fracaso del tratamiento sobre los pacientes. Además, evitan la respuesta inmune y permanecen dentro de la célula, escapando de la acción de los fagosomas (Proctor *et al.*, 2006 y Proctor *et al.*, 1995).

III. METODO

3.1 Tipo de Investigación

La presente investigación emplea un diseño correlacional, transversal, no experimental y observacional. De acuerdo con Esteban Nieto (2008), los estudios correlacionales son ventajosos para identificar las características más pertinentes de dos fenómenos o eventos y evaluar la relación que existe entre ambos. A lo largo del año 2023, la clínica privada Virgen del Rosario recopiló datos de todas las variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* que fueron aisladas de urocultivos.

3.2 Ámbito temporal y espacial

3.2.1 Delimitación espacial

En este estudio se analizarán los perfiles de resistencia de las variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* aisladas de urocultivos en la clínica privada Virgen del Rosario, ubicada en la calle Castilla del distrito de Magdalena del Mar de la provincia de Lima, departamento de Lima.

3.2.2 Delimitación temporal

La base de datos utilizada para la investigación actual abarca los meses de enero a diciembre del año 2023.

3.3 Variables

La investigación abarca los siguientes factores: Las dimensiones de los fenotipos de resistencia antimicrobiana de variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* (variable dependiente) y variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* (variable independiente) se especifican en la tabla de operacionalización de variables (**Tabla 3**).

Tabla 3.
Operacionalización de las variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala
Fenotipos de resistencia de las variantes de colonias pequeñas de <i>Escherichia coli</i>	Susceptibilidad in vitro del microorganismo de ser inhibido por los diversos tipos de fármacos antimicrobianos empleados en el antibiograma.	Sensibilidad o resistencia por parte del microorganismo frente a la acción de los antimicrobianos empleados en el estudio de antibiograma.	Susceptibilidad antimicrobiana	Puntos de corte para metodología de disco difusión según la guía CLSI M-100 Ed.34 (2024) (Anexo A)	Sensible Intermedio Resistente
Variantes de colonias pequeñas de <i>Escherichia coli</i>	Bacilo gran negativo fermentador de glucosa, oxidasa negativa, anaerobio facultativo metabólicamente deficiente y morfológicamente atípico	Cepas de <i>Escherichia coli</i> morfológicamente atípicas al crecer en medios de enriquecimiento y metabólicamente deficientes.	<i>Escherichia coli</i> Variantes de colonias pequeñas (SCV)	Batería de medios bioquímicos para identificación Crecimiento normal solo en agar CLED	Fermentador No Fermentador Positivo Negativo

3.4 Población

Se realizará una recopilación del total de 40 variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* recolectadas de urocultivos positivos evaluadas en el laboratorio de microbiología de la Clínica Virgen del Rosario a lo largo de 2023.

3.4.1 Criterios de inclusión

Se incluirán todos los urocultivos positivos de variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli*, independientemente de la edad, el sexo o la enfermedad subyacente del paciente.

3.4.2 Criterios de exclusión

Las cepas distintas a las variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* se eliminarán de las muestras.

3.5 Muestra

La muestra incluirá un total de 40 variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* derivadas de urocultivos positivos examinados en el laboratorio de microbiología de la Clínica Virgen del Rosario en el año 2023.

3.5.1 Tipo de muestreo

No probabilístico de tipo censal.

3.6 Instrumentos

Esta investigación utilizará la información del laboratorio de microbiología de la Clínica Virgen del Rosario para el año 2023. Esta base de datos registra la identificación y susceptibilidad de los aislamientos en urocultivos positivos. Además, en este apartado se expondrán los factores de la investigación. Los datos y hallazgos se recopilarán de los registros del laboratorio y se establecerá un cronograma de recopilación de datos para agilizar este procedimiento. Por último, los registros de laboratorio se ingresarán en la aplicación SPSS para realizar análisis estadísticos

adicionales.

3.6.1 Unidad de análisis

Serán las variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli*, obtenidas de urocultivos positivos en el laboratorio de microbiología de la Clínica Virgen del Rosario durante el año 2023.

3.7 Procedimientos

Los datos sobre los fenotipos de resistencia antimicrobiana de las variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* aisladas de urocultivos positivos durante el año 2023, se recogerán en el formulario de recogida de datos (Anexo B) y se introducirán en el programa estadístico SPSS para en última instancia, obtener tablas estadísticas y gráficos sobre la frecuencia de los fenotipos de resistencia a los antimicrobianos considerados en este estudio (AmpC, IRT, BLEE y carbapenemasas).

3.8 Análisis de datos

Para el procesamiento de los datos se utilizará el paquete estadístico SPSS, en el cual se realizará la descripción y exploración de las variables, así como el diseño de las tablas y gráficos estadísticos sobre la frecuencia de estos fenotipos de resistencia antimicrobiana.

IV. RESULTADOS

En este capítulo se detallan los resultados del análisis de variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* aisladas de urocultivos positivos durante el año 2023 en la Clínica Virgen del Rosario. Este análisis busca proporcionar una visión integral sobre la frecuencia de aparición de estas variantes en comparación con otros patógenos detectados en los urocultivos. Se abordará la proporción de *E. coli* frente a otros microorganismos identificados, destacando el porcentaje específico de cepas de variantes de colonias pequeñas (SCV) de *Escherichia coli*. Este enfoque permitirá contextualizar la importancia clínica de las variantes de colonias pequeñas de *E. coli* en el perfil de infecciones urinarias del entorno hospitalario.

Además, se examinarán los fenotipos de resistencia antimicrobiana de las cepas de variantes de colonias pequeñas de *E. coli* identificadas, evaluando su sensibilidad a una gama de antimicrobianos utilizados en el tratamiento de infecciones urinarias. Se presentará la distribución de resistencia y sensibilidad frente a diversos fármacos, como Amoxicilina/Ac. Clavulánico, Gentamicina, Cefazolina, entre otros, proporcionando un panorama detallado sobre la eficacia de los tratamientos y las posibles dificultades en el manejo de estas infecciones. Este análisis es crucial para entender el comportamiento de las variantes de colonias pequeñas en términos de resistencia y para adaptar estrategias terapéuticas que mejoren los resultados clínicos en el tratamiento de infecciones urinarias.

4.1 Resultados descriptivos

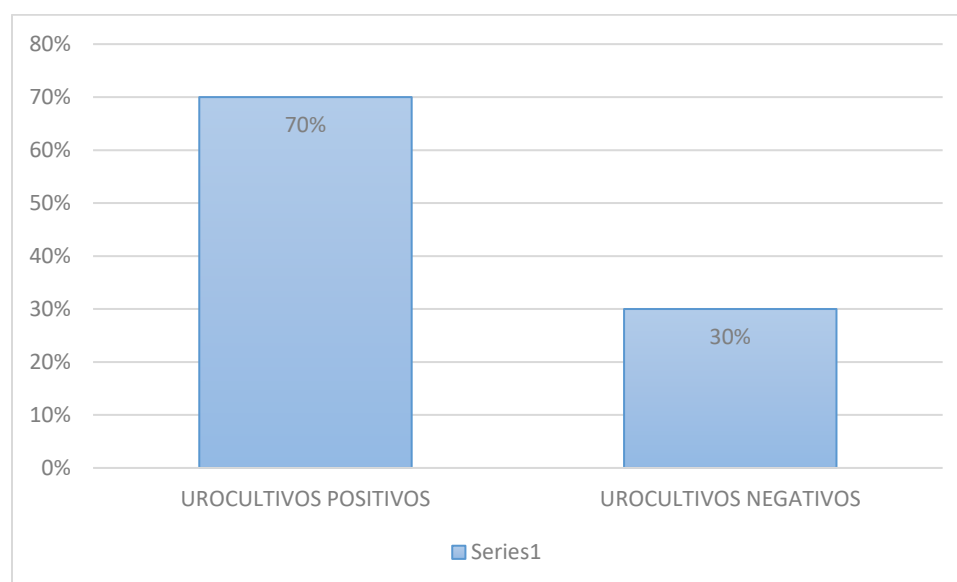
Tabla 4.

Total de urocultivos

	N	%
Urocultivos positivos	525	70%
Urocultivos negativos	225	30%
Urocultivos totales	750	100

Figura 1.

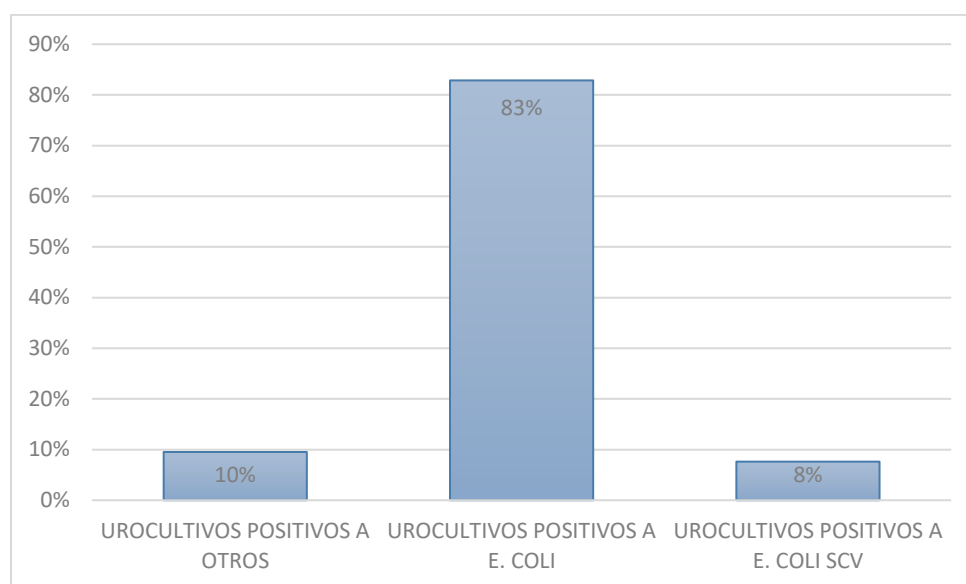
Total de urocultivos



La Tabla 4 muestra que, de un total de 750 urocultivos realizados, 525 (70%) resultaron positivos y 225 (30%) negativos. Esta alta proporción de urocultivos positivos sugiere una significativa prevalencia de infecciones urinarias entre los pacientes evaluados. El hecho de que el 70% de los urocultivos revelaran infecciones destaca la importancia de analizar la distribución de variantes de colonias pequeñas de *E. coli* dentro de este grupo positivo, ya que entender su frecuencia y fenotipo de resistencia antimicrobiana es crucial para adaptar estrategias terapéuticas efectivas y mejorar el manejo clínico de estas infecciones.

Tabla 5.*Evaluaciones de urocultivos positivos*

Urocultivos	N	%
Urocultivos positivos a otros	50	10%
Urocultivos positivos a <i>E. coli</i>	435	83%
Urocultivos positivos a <i>E. coli</i> SCV	40	8%
Total de urocultivos positivos	525	100%

Figura 2.*Evaluaciones de urocultivos positivos*

La Tabla 5 muestra que, de los 525 urocultivos positivos realizados en 2023, 435 (83%) aislamientos corresponden a *Escherichia coli* morfológicamente típicas, 40 (8%) de estos resultados positivos identificaron variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* y 50 (10%) de estos aislamientos correspondieron a otros microorganismos. Este dato indica que una presencia significativa de cepas de *E. coli* detectadas en los urocultivos positivos son variantes de colonias pequeñas (SCV), subrayando su importancia en el entorno estudiado. Esta alta proporción de variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* destaca la necesidad de centrarse en el análisis

de estas cepas específicas para comprender mejor su fenotipo de resistencia y ajustar adecuadamente las estrategias de tratamiento.

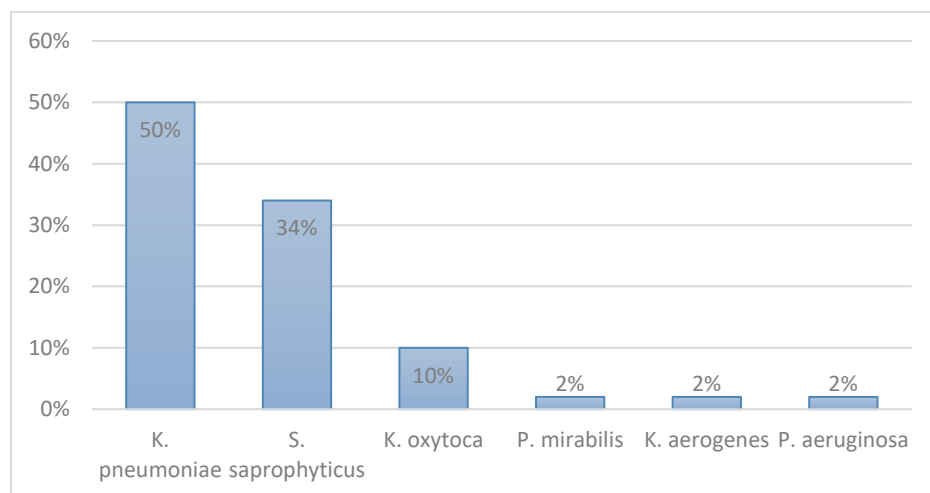
Tabla 6.

Urocultivos positivos a otros microorganismos

	N	%
<i>K. Pneumoniae</i>	25	50%
<i>S. Saprophyticus</i>	17	34%
<i>K. Oxytoca</i>	5	10%
<i>P. Mirabilis</i>	1	2%
<i>K. Aerogenes</i>	1	2%
<i>P. Aeruginosa</i>	1	2%
Urocultivos positivos a otros microorganismos	50	100%

Figura 3.

Urocultivos positivos a otros microorganismos



La Tabla 6 muestra la distribución de microorganismos identificados en los urocultivos positivos a otros microorganismos. *Klebsiella pneumoniae* es el patógeno predominante dentro de este grupo, representando el 50% de los casos, seguido por *Staphylococcus saprophyticus* con un 34%. Otros microorganismos identificados incluyen *Klebsiella oxytoca* (10%), *Proteus mirabilis* (2%), *Klebsiella aerogenes* (2%), y *Pseudomonas aeruginosa* (2%). Este perfil refleja una

diversidad en los patógenos responsables de infecciones urinarias después de *Escherichia coli*, con una notable prevalencia de *K. pneumoniae* como segundo agente etiológico más frecuentemente aislado en urocultivos en el presente estudio.

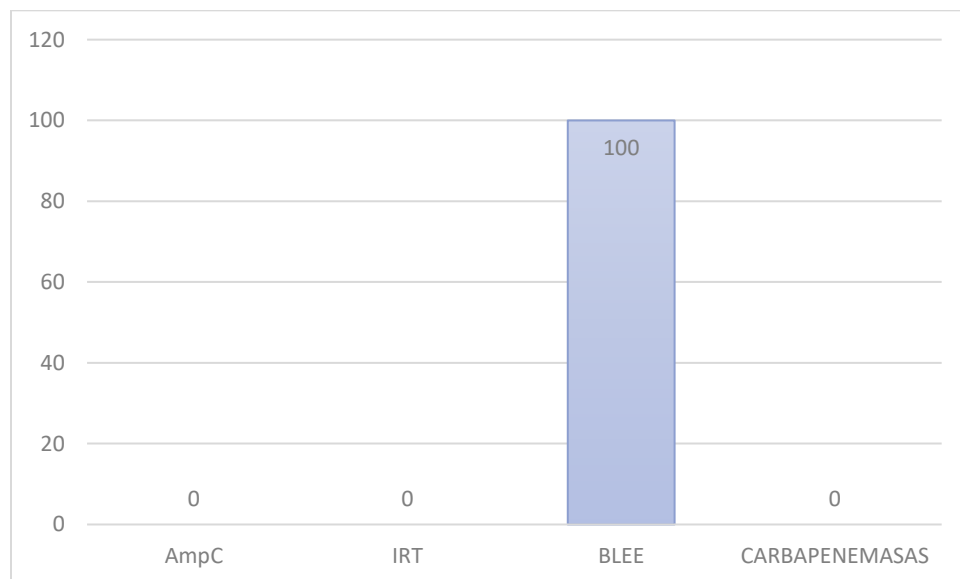
Tabla 7.

Mecanismos de resistencia hallados

	N	%
AmpC	0	0
IRT	0	0
BLEE	2	100
CARBAPENEMASAS	0	0
TOTAL	2	100

Figura 4.

Mecanismos de resistencia hallados



La Tabla 7 indica que, entre las variantes de colonias pequeñas de *E. coli* analizadas, se encontraron solo dos casos de resistencia antimicrobiana de tipo BLEE (Betalactamasa de Espectro Extendido), lo que representa el 100% de los casos de resistencia antimicrobiana detectados. No

se identificaron mecanismos de resistencia antimicrobiana asociados a AmpC, IRT o Carbapenemasas. Este hallazgo alentador señala una escasa prevalencia de mecanismos de resistencia antimicrobiana adquiribles en las variantes de colonias pequeñas de *E. coli*, sin embargo, destaca la importancia de considerar las Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) como posibles resistencias adquiribles por parte de estas variantes de colonias pequeñas de *E. coli* en el tratamiento de infecciones urinarias causadas por este microorganismo.

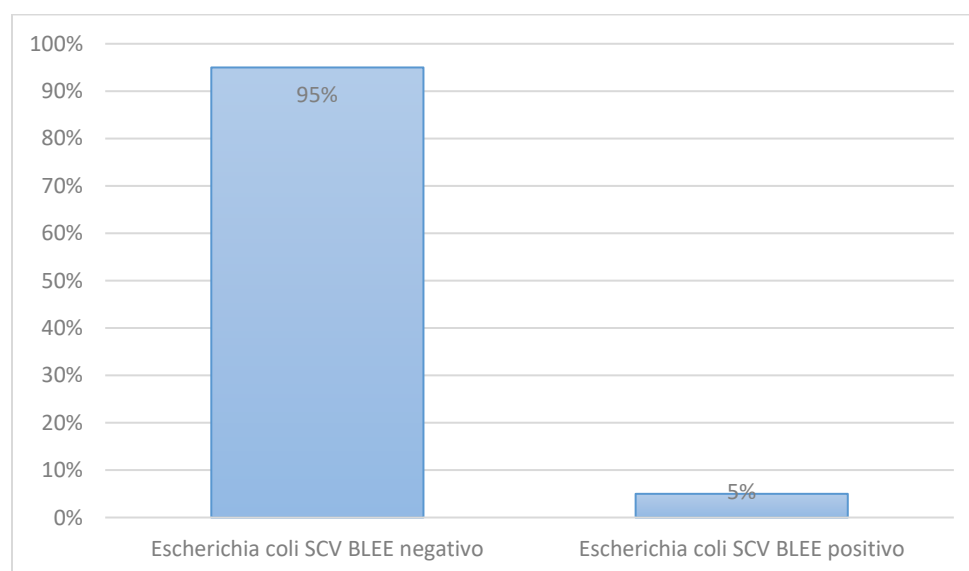
Tabla 8.

Distribución de mecanismos de resistencia en E. coli SCV

	<i>N</i>	%
<i>Escherichia coli</i> SCV BLEE negativo	38	95%
<i>Escherichia coli</i> SCV BLEE positivo	2	5%
Total de <i>Escherichia coli</i> SCV	40	100%

Figura 5.

Distribución de mecanismos de resistencia en E. coli SCV



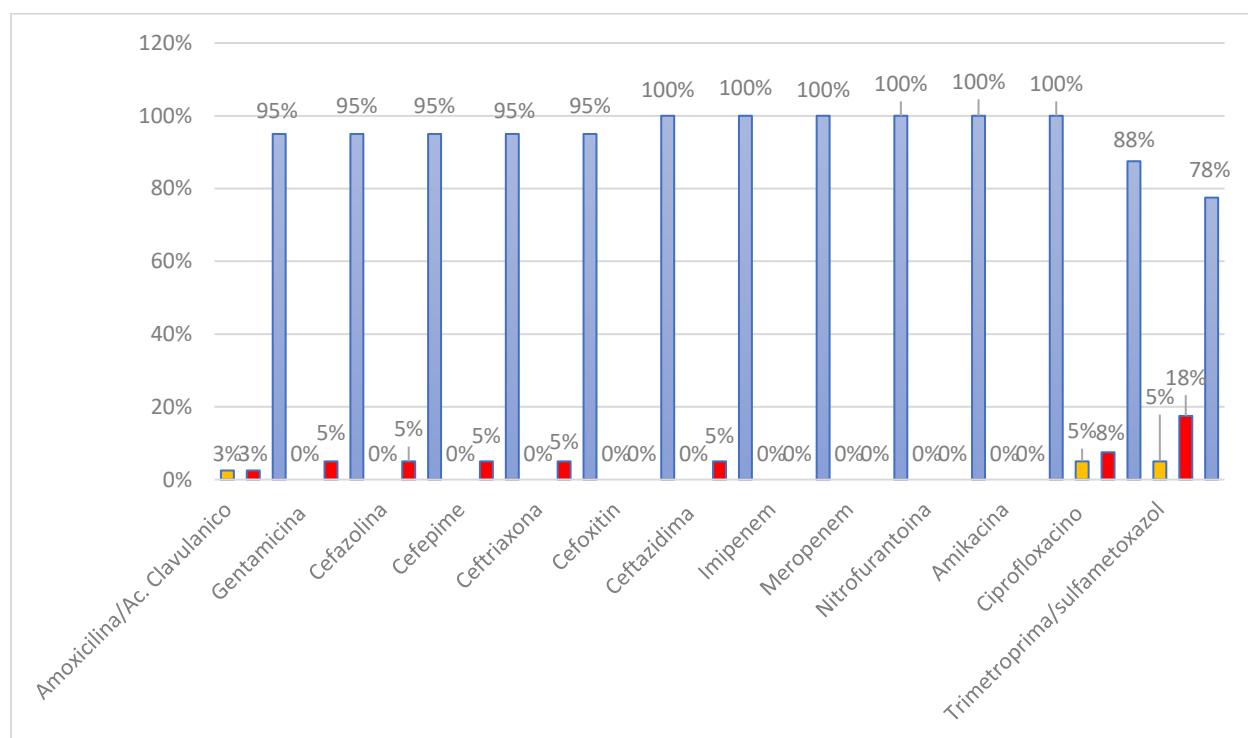
La Tabla 8 muestra la distribución de los mecanismos de resistencia hallados en las variantes de colonias pequeñas de *E. coli* en el presente estudio. De un total de 40 (100%) cepas de *E. coli* SCV analizadas, solo 2 (5%) fueron portadores de mecanismos de resistencia (BLEE). Estos hallazgos remarcan la importancia de analizar la presencia de mecanismos de resistencia antimicrobiana transmisibles en estas variantes bacterianas, ya que pese a tener una escasa prevalencia de estas, las posibilidades de adquirirlas no son nulas.

Tabla 9.

Resultados de pruebas de sensibilidad antimicrobiana

Antimicrobianos	Sensibilidad antimicrobiana	Total	
		n	%
Amoxicilina/Ac. Clavulanico	Intermedio	1	2.5
	Resistente	1	2.5
	Sensible	38	95
Gentamicina	Intermedio	0	0
	Resistente	2	5
	Sensible	38	95
Cefazolina	Intermedio	0	0
	Resistente	2	5
	Sensible	38	95
Cefepime	Intermedio	0	0
	Resistente	2	5
	Sensible	38	95
Ceftriaxona	Intermedio	0	0
	Resistente	2	5
	Sensible	38	95
Cefoxitin	Intermedio	0	0
	Resistente	0	0
	Sensible	40	100
Ceftazidima	Intermedio	0	0
	Resistente	2	5
	Sensible	38	95
Imipenem	Intermedio	0	0

	Resistente	0	0
	Sensible	40	100
Meropenem	Intermedio	0	0
	Resistente	0	0
	Sensible	40	100
Nitrofurantoina	Intermedio	0	0
	Resistente	0	0
	Sensible	40	100
Amikacina	Intermedio	0	0
	Resistente	0	0
	Sensible	40	100
Ciprofloxacino	Intermedio	2	5
	Resistente	3	7.5
	Sensible	35	87.5
Trimetroprima/sulfametoxazol	Intermedio	2	5
	Resistente	7	17.5
	Sensible	31	77.5

Figura 6.*Resultados de pruebas de sensibilidad antimicrobiana*

La Tabla 9 presenta los resultados de las pruebas de sensibilidad antimicrobiana para los diversos fármacos contemplados en el presente estudio. En general, la mayoría de las cepas de variantes de colonias pequeñas de *E. coli* aisladas muestran una alta sensibilidad a los antimicrobianos evaluados. La mayoría de las cepas son sensibles a Amoxicilina/Ac. Clavulanico, Gentamicina, Cefazolina, Cefepime, Ceftriaxona, Cefoxitina, Ceftazidima, Imipenem, Meropenem, Nitrofurantoína, Amikacina, y muestran una respuesta positiva al Ciprofloxacino y Trimetoprima/Sulfametoxazol, aunque con una ligera resistencia en algunos casos. Los antimicrobianos como Cefoxitina, Imipenem, Meropenem, Nitrofurantoína y Amikacina muestran una sensibilidad del 100%, mientras que Ciprofloxacino y Trimetoprima/Sulfametoxazol presentan una menor proporción de sensibilidad, con un 87.5% y 77.5% respectivamente.

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el análisis de los resultados obtenidos en esta investigación sobre las variantes de colonias pequeñas (SCV) de *Escherichia coli* aisladas de urocultivos, es crucial comparar estos hallazgos con los datos reportados en la literatura científica. La revisión de estudios previos ofrece una perspectiva valiosa sobre las características fenotípicas y patrones de resistencia de estas cepas atípicas, que a menudo presentan desafíos diagnósticos y terapéuticos. Esta sección de discusión abordará cómo nuestros resultados se alinean o difieren de los informes anteriores, con el fin de contextualizar nuestras observaciones dentro del marco de las investigaciones actuales y explorar las implicaciones clínicas y microbiológicas de las variantes de colonias pequeñas de *E. coli*.

Los resultados de nuestra investigación sobre variantes de colonias pequeñas (SCV) de *Escherichia coli* aisladas de urocultivos revelan patrones de resistencia antimicrobiana que reflejan y contrastan con los hallazgos de Park et al. (2018) y Nagano et al. (2020). Park et al. (2018) reportaron que las SCV de *E. coli* presentaban desafíos significativos en la identificación y pruebas de susceptibilidad debido a su morfología atípica y a su resistencia a levofloxacino, un patrón también observado en nuestra muestra. Sin embargo, a diferencia de sus resultados, nuestras SCV mostraron una resistencia mínima a los antimicrobianos estudiados, con predominancia de sensibilidad a la mayoría de los fármacos. En contraste, Nagano et al. (2020) aislaron SCV productoras de BLEE que presentaron resistencia a cefotaxima y otras cefalosporinas, hallazgos que también se reflejan en nuestra investigación. Ambos estudios subrayan la importancia de una identificación y pruebas de susceptibilidad precisas para las SCV, y nuestros resultados destacan la necesidad de ajustar las estrategias antimicrobianas para abordar las peculiaridades y resistencia de estas variantes, que pueden diferir según el entorno clínico y las características específicas de las cepas.

Los hallazgos de Trülsch et al. (2003) y McIver y Tapsall (1991) brindan una perspectiva valiosa sobre las características y resistencia de las variantes de colonias pequeñas (SCV) de *Escherichia coli* que se alinean y contrastan con los resultados obtenidos en nuestro estudio. Trülsch et al. (2003) informaron una alta resistencia a antimicrobianos en cepas metabólicamente deficientes de *E. coli*, con sensibilidad restringida a ciertos betalactámicos y a Amoxicilina/Ácido Clavulánico, observaciones que coinciden en parte con nuestra muestra, que también mostró alta sensibilidad a estos fármacos. Sin embargo, nuestras cepas SCV presentaron una sensibilidad notablemente alta a la mayoría de los antimicrobianos probados, contrastando con la amplia resistencia documentada por Trülsch et al. Por otro lado, McIver y Tapsall (1991) reportaron una resistencia significativa a ampicilina y tetraciclina en SCV dependientes de cisteína, con alta concordancia en la sensibilidad a otros antimicrobianos, patrones que también se reflejan en nuestra investigación, aunque con variaciones en la resistencia observada. Estos estudios resaltan la importancia de la adecuada caracterización fenotípica y la variabilidad en la susceptibilidad antimicrobiana entre diferentes cepas de SCV, enfatizando la necesidad de considerar estos factores en el manejo clínico y en la interpretación de pruebas de susceptibilidad.

Los estudios de Shivendra Dutt et al. (2014) y Nagano et al. (2020) aportan información complementaria sobre las variantes de colonias pequeñas (SCV) de *Escherichia coli*, mostrando características que se relacionan de manera interesante con nuestros hallazgos. Shivendra Dutt et al. (2014) observaron una amplia resistencia a varios antimicrobianos en SCV de *E. coli*, incluyendo cefuroxima, norfloxacin y ampicilina, lo cual contrasta con la alta sensibilidad a estos fármacos en nuestra muestra, donde las SCV mostraron una notable susceptibilidad a la mayoría de los antimicrobianos evaluados. Por otro lado, Nagano et al. (2020) encontraron que una SCV de *E. coli* productora de BLEE era resistente a cefotaxima y otras cefalosporinas, pero también

reveló sensibilidad a una gama restringida de antimicrobianos, lo cual es congruente con nuestra observación de resistencia a trimetoprim/sulfametoxazol en algunas cepas SCV. Estos resultados destacan la variabilidad en los patrones de resistencia y sensibilidad entre las cepas de SCV, subrayando la necesidad de una evaluación detallada en el diagnóstico y tratamiento de infecciones urinarias causadas por estas variantes.

VI. CONCLUSIONES

6.1 La investigación ha revelado que las variantes de colonias pequeñas de *Escherichia coli* aisladas en el año 2023 presentan un fenotipo de resistencia antimicrobiana notablemente diverso. La mayoría de las cepas mostraron resistencia a antibióticos como Ciprofloxacino y Trimetoprim/sulfametoxazol, mientras que la resistencia a la mayoría de los Betalactámicos y Carbapenémicos no fue significativa.

6.2 El análisis de los datos ha mostrado que una proporción significativa de las variantes de colonias pequeñas de *E. coli* aisladas durante el año 2023 produce betalactamasas de espectro extendido (BLEE).

6.3 La investigación indica que las variantes de colonias pequeñas de *E. coli* aisladas en la clínica privada durante el año 2023 presentan una baja frecuencia de betalactamasas resistentes a inhibidores (IRT).

6.4 Los resultados de esta investigación muestran que la frecuencia de betalactamasas de tipo AmpC en las variantes de colonias pequeñas de *E. coli* es baja.

6.5 La investigación revela que no se detectó una frecuencia significativa de carbapenemasas entre las variantes de colonias pequeñas de *E. coli* aisladas en la clínica durante el año 2023.

VII. RECOMENDACIONES

7.1 Se recomienda implementar un protocolo de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana detallado y específico para variantes de colonias pequeñas de *E. coli* en los laboratorios de microbiología. Dado que estas cepas pueden presentar patrones de resistencia únicos, es crucial adaptar los métodos de detección y caracterización para asegurar una evaluación precisa. Además, es aconsejable revisar y actualizar regularmente las guías de tratamiento para reflejar los resultados actuales de resistencia y garantizar la eficacia del tratamiento antimicrobiano.

7.2 Se recomienda establecer un protocolo riguroso para la detección y confirmación de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en *E. coli* SCV. Esto incluye la utilización de métodos de diagnóstico específicos y la implementación de estrategias de vigilancia para monitorizar la aparición de BLEE. Los profesionales de salud deben ser capacitados para interpretar los resultados y ajustar las opciones terapéuticas de acuerdo con la resistencia antimicrobiana identificada, optimizando así la efectividad del tratamiento.

7.3 Se sugiere continuar con la vigilancia de la resistencia a betalactamasas resistentes a inhibidores (IRT) en *E. coli* SCV, a pesar de su baja frecuencia en el presente estudio. Es importante mantener un monitoreo constante para identificar cualquier cambio en los patrones de resistencia que pueda surgir. Además, los protocolos de tratamiento deben considerar la posibilidad de IRT en infecciones resistentes para asegurar que se elijan los antimicrobianos adecuados.

7.4 Se recomienda realizar una vigilancia periódica de la prevalencia de betalactamasas de tipo AmpC, a pesar de su baja frecuencia en el estudio. La identificación temprana de estas enzimas puede ser crucial para el manejo de infecciones complejas. Además, se debe considerar la inclusión

de pruebas de detección de AmpC en los paneles de susceptibilidad antimicrobiana para asegurar un tratamiento efectivo.

7.5 Aunque la frecuencia de carbapenemasas es baja en este estudio, se recomienda establecer un programa de vigilancia continua para detectar posibles aumentos en la resistencia a carbapenémicos. Es crucial mantener los protocolos de tratamiento adecuados y preparar estrategias para enfrentar una posible emergencia en la resistencia a carbapenemasas. Además, se debe fomentar la educación continua para los profesionales de salud sobre el manejo de infecciones resistentes y la interpretación de resultados de pruebas de susceptibilidad.

VIII. REFERENCIAS

Andreu A., Cacho J., Coira A. y Lepe J., (2010). Diagnostico Microbiológico de las infecciones de tracto urinario. En Cercenado E. y Cantón R. (Eds.), Procedimientos en microbiología clínica (pp 1- 40). SEIMC. <https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientos-microbiologia/seimc-procedimientomicrobiologia14a.pdf>

Betran A., Lavilla M., Cebollada R., Calderon J. y Torres L., (2020) Resistencia antibiótica de *Escherichia coli* en infecciones urinarias nosocomiales y adquiridas en la comunidad del Sector Sanitario de Huesca 2016-2018. *Revista Clínica de Medicina de Familia*. 2020;13(3):198 - 202. https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-695X2020000300198

Borderon E. y Horodniceanu T., (1978) Metabolically Deficient Dwarf-Colony Mutants of *Escherichia coli*: Deficiency and Resistance to Antibiotics of Strains Isolated from Urine Culture. *Journal of Clinical Microbiology*. 1978;8(6): 629 – 634. <https://journals.asm.org/doi/epdf/10.1128/jcm.8.6.629-634.1978>

Calvo *et al.*, (2011). Diagnostico Microbiológico de las infecciones de tracto urinario. En Cercenado E. y Cantón R. (Eds.), Procedimientos en Microbiología Clínica (pp 1 – 54). SEIMC. <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia38.pdf>

Cantón R *et al.*, (2000). Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. En Picazo J. (Ed.), Procedimientos en Microbiología Clínica (pp 1 – 54). SEIMC. <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>

Comité de Microbiología clínica. (2001) Recomendaciones para el diagnóstico microbiológico de la infección urinaria. *Rev Chil Infect.* 2001;18(1):57 – 63. https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182001000100008

Echevarria J., Sarmiento E. y Osoreo F., (2006) Infección del tracto urinario y manejo antibiótico. *Acta Med Per.* 2006;23(1): 26 – 30. <http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v23n1/a06v23n1>

Faz Tapia, D. y Jaramillo, K. (2023). Infecciones del tracto urinario por *Escherichia coli* productora de beta-lactamasas de espectro extendido de origen comunitario e intrahospitalario: una revisión bibliográfica. *Revista Científica Arbitrada Multidisciplinaria PENTACIENCIAS.* 5(7): 343 – 357. <https://doi.org/10.59169/pentaciencias.v5i7.945>

Gao, S., Zhang, Z., Xu, X., Zhou, H., Zhu, H., Zhang, Y., Cao, X., Zhou, W. y Shen, H. (2022). Characteristics of a capnophilic small colony variant of *Escherichia coli* co-isolated with two other strains from a patient with bacteremia in China. *Arch Microbiol.* 204:333. <https://doi.org/10.1007/s00203-022-02932-8>

Guillen A. y Bravo N., (2018) Preparación de Medios de Cultivo y Reactivos para el Laboratorio de Microbiología Clínica (pp 31, 45, 59).

Hernández Sampieri R, Mendoza Torres CP. Metodología de la investigación: las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta. México: McGraw-Hill Education; 2018.

Hirsch H., (1961) Small colony variants of *Escherichia coli*: Mode of action of copper in variant recovery and population dynamics of cultures containing variants. *American Society of Microbiology.* 1961;81(1): 448 – 458. <https://journals.asm.org/doi/pdf/10.1128/jb.81.3.448-458.1961>

Hubbard A., Bulgasim I. y Roberts A., (2021) A novel *hemA* mutation is responsible for a small-colony- Variant phenotype in *Escherichia coli*. *Microbiology*. 2021;167:000962. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000962>

Johns B., Purdy K., Tucker N. y Maddocks S., (2015) Phenotypic and Genotypic Characteristics of Small Colony Variants and Their Role in Chronic Infection. *Microbiology Insights*. 2015;8: 15 – 23. <https://doi.org/10.4137/MBI.S25800>

Kahl, B. (2013). Small colony variants (SCVs) of *Staphylococcus aureus* – A bacterial survival strategy. *Infect Genet Evol*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2013.05.016>

Lopardo H., Predari S. y Vay C. (Eds). Enterobacterias. En Manual de Microbiología Clínica de la Asociación Argentina de Microbiología (pp 378 – 415). AAM. <https://www.aam.org.ar/descarga-archivos/Parte21Enterobacterias.pdf>

Maskell R., Okubadejo O., Payne R. y Pead L., (1978) HUMAN INFECTIONS WITH THYMINE-REQUIRING BACTERIA. *Journal of Medical Microbiology*. 1978;11(1); 33 – 45. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/621731/>

McIver C. J., y Tapsall J. W., (1991) In Vitro Susceptibilities of Clinical Isolates of Cysteine-Requiring *Escherichia coli* to 12 Antimicrobial Agents. *Antimicrobial agents and Chemotherapy*. 1991;35(5): 995 – 997. https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.35.5.995?url_ver=Z39.88-2003&rft_id=ori:rid:cross-ref.org&rft_dat=cr_pub%20%20pubmed

McIver C., y Tapsall J., (1993) Further studies of clinical isolates of cysteine-requiring *Escherichia coli* and *Klebsiella* and possible mechanisms for their selection *in vivo*. *Journal of*

Medical Microbiology. 1993;39(5):382 – 387. <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/00222615-39-5-382>

Mowjood M., Miller F., Schor J. y Kocka F., (1979) Small-colony Forms of Enteric Bacteria after Exposure to Aminoglycosides. *American Journal of Clinical Pathology*. 1979;72(1): 79 – 81. <https://academic.oup.com/ajcp/article-abstract/72/1/79/1760957>

Nagano N. *et al.*, (2020) Isolation of thymidine-dependent and extended-spectrum-b-lactamase- producing *Escherichia coli* small-colony variant from urine of a septuagenarian female patient with recurrent cystitis: A case report with genetic investigation. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2020;26(10): 1066 – 1069. [https://www.jiac-j.com/article/S1341-321X\(20\)30171-9/fulltext](https://www.jiac-j.com/article/S1341-321X(20)30171-9/fulltext)

Negishi T. *et al.*, (2018) Characterization of clinically isolated thymidine-dependent small-colony variants of *Escherichia coli* producing extended spectrum b-lactamase. *Journal of Medical Microbiology*. 2018;67: 33 – 39. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000634>

Esteban N. (2018) Tipos de investigación. *Universidad Santo Domingo de Guzmán*. 2018. <http://repositorio.usdg.edu.pe/handle/USDG/34>

Park Y. *et al.*, (2018) Urinary tract infection caused by a small colony variant form of capnophilic *Escherichia coli* leading to misidentification and non-reactions in antimicrobial susceptibility tests. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*. 2018;7: 139. <https://doi.org/10.1186/s13756-018-0438-6>

Proctor R. *et al.*, (2006) Small colony variants: a pathogenic form of bacteria that facilitates persistent and recurrent infections. *Nature Reviews Microbiology*. 2006;4: 295 – 305. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1384>

Proctor R., Langevelde P., Kristjansson M., Maslow J. y Arbeit R., (1995) Persistent and Relapsing Infections Associated with Small-Colony Variants of *Staphylococcus aureus*. *Clinical Infectious Diseases*. 1995;20(1): 95 – 102. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7727677/>

Ramiro, R., Costa, H. y Gordo, I. (2016). Macrophage adaptation leads to parallel evolution of genetically diverse *Escherichia coli* small-colony variants with increased fitness in vivo and antibiotic collateral sensitivity. *Evol Appl*, 9:994-1004. <https://doi.org/10.1111/eva.12397>

Rodriguez G., (2002) Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud Publica Mex*. 2002;44(5):464 - 475. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342002000500011

Santos, V. y Hirshfield I. (2016) The Physiological and Molecular Characterization of a Small Colony Variant of *Escherichia coli* and Its Phenotypic Rescue. *PLoS ONE* 11(6): e0157578. doi:10.1371/journal.pone.0157578. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157578>

Sendi P. *et al.*, (2010) *Escherichia coli* Variants in Periprosthetic Joint Infection: Diagnostic Challenges with Sessile Bacteria and Sonication. *Journal of Clinical Microbiology*. 2010;48(5): 1720 – 1725. <https://doi.org/10.1128/jcm.01562-09>

Shivendra Dutt., Nagalakshmi N. y Shobha K. L., (2014) Small colony variant of *Escherichia coli* isolated from a recurrent urinary tract infection- a case report. *International Journal of Health*. 2014;2(2): 61 – 62. <https://doi.org/10.14419/ijh.v2i2.3790>

Tappe D. *et al.*, (2006) First case of febrile bacteremia due to a wild type and small-colony variant of *Escherichia coli*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2006;25(1): 31–34. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16418831/>

Tapsall J., y McIver C., (1986) Septicaemia caused by cysteine-requiring isolates of *Escherichia coli*. *Journal of Medical Microbiology*. 1986;22(4): 379 – 382. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3540306/>

Trülsch K. *et al.*, (2003) Highly Resistant Metabolically Deficient Dwarf Mutant of *Escherichia coli* Is the Cause of a Chronic Urinary Tract Infection. *Journal of Clinical Microbiology*. 2003;41(12):5689 – 5694. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC308983/>

Zboromyrska Y, de Cueto Lopez M., Alonso-Tarres C. y Sanchez-Hellin V., (2019). Diagnóstico microbiológico de las infecciones de tracto urinario. En Cercenado E. y Canton R. (Eds.), *Procedimientos en Microbiología Clínica* (pp 1 – 78). SEIMC. <https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia14b.pdf>

Zhou W. *et al.*, (2021) Characteristics of a Capnophilic Small Colony Variant of *Escherichia coli* Co-Isolated with Two Other Strains from a Patient with Bacteremia in China. *Research Square*. 2021;1(1): 1 – 12. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-851020/v1>

IX. ANEXOS

ANEXO A: MATRIZ DE CONSISTENCIA

PREGUNTAS	OBJETIVOS	VARIABLES	INDICADORES	METODO
PREGUNTA GENERAL ¿Cuáles serán los fenotipos de resistencia antimicrobiana que presenten las variantes de colonias pequeñas de <i>Escherichia coli</i> aisladas a partir de urocultivos de pacientes en una clínica privada durante el año 2023?	Determinar los fenotipos de resistencia antimicrobiana que presenten las variantes de colonias pequeñas de <i>Escherichia coli</i> aisladas a partir de urocultivos de pacientes en una clínica privada durante el año 2023.	V1: Fenotipos de resistencia antimicrobiana V2: Variantes de colonias pequeñas de <i>Escherichia coli</i>	- Puntos de corte para metodología de disco difusión según la guía CLSI M-100 Ed. 34 - Batería de medios bioquímicos para identificación - Crecimiento típico solo en agar CLED	NIVEL DE ESTUDIO: Correlacional y de corte transversal DISEÑO DE ESTUDIO: No experimental MUESTRA: La muestra estuvo conformada por un total de 40 cepas de variantes de colonias pequeñas de <i>Escherichia coli</i> procedentes de urocultivos en una clínica privada UNIDAD DE ANALISIS: Cepa de variantes de colonias pequeñas de <i>Escherichia coli</i>
PREGUNTAS ESPECIFICAS ¿Cuál será la frecuencia de betalactamasas de tipo AmpC en las variantes de colonias pequeñas de <i>Escherichia coli</i> aisladas a partir de urocultivos de pacientes en una clínica privada durante el año 2023?	Determinar la frecuencia de betalactamasas de tipo AmpC en las variantes de colonias pequeñas de <i>Escherichia coli</i> aisladas a partir de urocultivos de pacientes en una clínica privada durante el año 2023.			
¿Cuál será la frecuencia de betalactamasas resistentes a inhibidores (IRT) en las variantes de colonias pequeñas de <i>Escherichia coli</i> aisladas a partir de urocultivos de pacientes en una clínica privada durante el año 2023?	Determinar la frecuencia de Betalactamasas Resistentes a Inhibidores (IRT) en las variantes de colonias pequeñas de <i>Escherichia coli</i> aisladas a partir de urocultivos de pacientes en una clínica privada durante el año 2023.			

¿Cuál será la frecuencia de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) en las variantes de colonias pequeñas de <i>Escherichia coli</i> aisladas a partir de urocultivos de pacientes en una clínica privada durante el año 2023?	Determinar la frecuencia de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) en las variantes de colonias pequeñas de <i>Escherichia coli</i> aisladas a partir de urocultivos de pacientes en una clínica privada durante el año 2023.			
¿Cuál será la frecuencia de Carbapenemasas en las variantes de colonias pequeñas de <i>Escherichia coli</i> aisladas a partir de urocultivos de pacientes en una clínica privada durante el año 2023?	Determinar la frecuencia de Carbapenemasas en las variantes de colonias pequeñas de <i>Escherichia coli</i> aisladas a partir de urocultivos de pacientes en una clínica privada durante el año 2023.			

ANEXO B: FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

[illegible]

ANEXO C: PUNTOS DE CORTE PARA METODOLOGIA DE DISCO DIFUSION SEGÚN LA GUIA M-100 Ed. 34, CLSI

ANTIMICROBIANO	CONCENTRACION	DIAMETROS DE HALOS DE INHIBICION, PUNTOS DE CORTE E INTERPRETACION			
		SENSIBLE	S.D.D	INTERMEDIO	RESISTENTE
Amoxicilina/Ac. Clavulanico	20/10 ug	≥ 18	-	14 - 17	≤ 13
Gentamicina	10 ug	≥ 18	-	15 - 17	≤ 14
Amikacina	30 ug	≥ 20	-	17 - 19	≤ 16
Cefazolina	30 ug	≥ 15	-	-	≤ 14
Cefepime	30 ug	≥ 25	19 - 24	-	≤ 18
Ceftriaxona	30 ug	≥ 23	-	20 - 22	≤ 19
Cefoxitin	30 ug	≥ 18	-	15 - 17	≤ 14
Ceftazidima	30 ug	≥ 21	-	18 - 20	≤ 17
Imipenem	10 ug	≥ 23	-	20 - 22	≤ 19
Meropenem	10 ug	≥ 23	-	20 - 22	≤ 19
Ciprofloxacino	5 ug	≥ 26	-	22 - 25	≤ 21
Nitrofurantoina	300 ug	≥ 17	-	15 - 16	≤ 14
Sulfametoxazol/Trimetoprim	1.25/23.75 ug	≥ 16	-	11 - 15	≤ 10

Adaptado de CLSI M-100. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 34th ed. 2024

ANEXO D: PERMISO DE LA INSTITUCION PARA EL DESARROLLO DE LA TESIS

	<u>CLINICA MATERNO INFANTIL VIRGEN DEL ROSARIO S.R.L</u>
---	--

CARTA N°001-2024-CVR

A : Sr. CESAR JOSUE BONILLA SALINAS
Investigador pregrado Universidad Nacional Federico Villarreal

ASUNTO : Solicito autorización para ejecución de proyecto de investigación

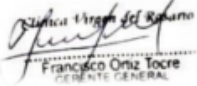
FECHA : 17 de Setiembre del 2024

Tengo el agrado de dirigirme a usted para saludarlo cordialmente y a la vez **INFORMARLE** en relación a su solicitud de autorización para realizar el proyecto de investigación titulado **"FENOTIPOS DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE VARIANTES DE COLONIAS PEQUEÑAS DE ESCHERICHIA COLI AISLADAS DE UROCULTIVOS EN UNA CLINICA PRIVADA – 2023"**, con la finalidad de obtener el título de licenciado en Tecnología Médica.

Al respecto esta jefatura no tiene inconveniente en **AUTORIZARLE** la ejecución del proyecto de investigación en el área de Microbiología.

Sin otro particular me despido de usted.

Atentamente,


Francisco Ortiz Tocre
GERENTE GENERAL


Dr. OSCAR ROCA VALENCIA
Médico Patólogo Clínico
CMP 23840 - RNE 12050

WEB: WWW.CVROSARIO.COM . JR.CASTILLA 976 MAGDALENA DEL MAR - TELEF : 204 - 0200 .