

CLASIFICACIÓN FILOGENÉTICA DE *ESCHERICHIA COLI* UROPATÓGENA Y RESPUESTA INMUNOMETABÓLICA EN ADULTOS MAYORES CON INFECCIÓN URINARIA EN CASAS DE REPOSO

ARTURO OCTAVIO GONZALES RODRIGUEZ¹, HELI JAIME BARRÓN PASTOR², CESAR ARTURO GUTIÉRREZ VILLAFUERTE³,
YESICA LLIMPE MITMA DE BARRÓN⁴, DORIS VIRGINIA HUERTA CANALES DE MIRANDA⁵, SILVIA SUAREZ CUNZA⁶

Recibido para publicación: 06-05-2019 - Versión corregida: 12-07-2019 - Aprobado para publicación: 15-07-2019

Gonzales-Rodriguez AC, Barrón-Pastor HJ, Gutiérrez-Villafuerte CA, Llimpe-Mitma-de-Barrón Y, Huerta-Canales-de-Miranda DV, Suarez-Cunza S. **Clasificación filogenética de Escherichia coli uropatógena y respuesta inmunometabólica en adultos mayores con infección urinaria en casas de reposo.** *Arch Med* (Manizales) 2019; 19(2):238-6. DOI: <https://doi.org/10.30554/archmed.19.2.3334.2019>

Resumen

Objetivos: caracterizar la respuesta inmunometabólica en la orina de pacientes adultos mayores infectados con *Escherichia coli* uropatógena residentes en casas de reposo y determinar su frecuencia filogenética. **Materiales y métodos:** estudio observacional descriptivo, en el cual se enrolaron 24 pacientes con infección del tracto urinario y 17 pacientes sin infección del tracto urinario. Se cuantificó el hierro y el TNF- α en orina por métodos espectrofotométricos, la capacidad antioxidante por ensayo ABTS⁺ y la determinación filogenética de *E. coli* por el método de Clermont. **Resultados:** la concentración de hierro, TNF- α y la capacidad antioxidante en la orina en pacientes con infección del tracto urinario los valores fueron de 175,40 $\mu\text{g/L}$, 70,11 pg/mL y 1229,75 $\mu\text{g/mL eq-VitC}$, mientras que en pacientes sin infección fue de 67,4 $\mu\text{g/L}$ ($p = 0,001$), 87,16 pg/mL ($p = 0,08$) y 1069,14 $\mu\text{g/mL eq-VitC}$ ($p = 0,61$) respectivamente. Además,

Archivos de Medicina (Manizales) Volumen 19 N° 2, Julio-Diciembre 2019, ISSN versión impresa 1657-320X, ISSN versión en línea 2339-3874, Gonzales Rodriguez A.C., Barrón Pastor H.J., Gutiérrez Villafuerte C.A., Llimpe Mitma-de Barrón Y., Huerta Canales de Miranda D.V., Suarez Cunza S.

- 1 Licenciado en Tecnología Médica. Universidad de Piura. Lima, Perú. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6377-1596>. Correo e.: arturo.gonzales@udep.pe
- 2 PhD Ecología, Evolución y Genética. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4041-4406>. Correo e.: helibarron@unmsm.edu.pe
- 3 Magister en epidemiología. Universidad de Piura. Lima, Perú. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0237-321X>. Correo e.: cesar.gutierrez@udep.pe
- 4 Doctora en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5420-5093> Correo e.: yllimpem@unmsm.edu.pe
- 5 Doctora en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0473-8083> Correo e.: dhuertac@unmsm.edu.pe
- 6 Doctora en Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7848-0102> Correo e.: ssuarezc@unmsm.edu.pe

se encontraron 11 *E.coli* pertenecientes al grupo B2 y 13 agrupados en no - B2 (A, B1, D y E). **Conclusiones:** se evidencia una alta disponibilidad de hierro en la orina de los pacientes adulto mayores con infección del tracto urinario, lo cual estimula la proliferación bacteriana. Hay una elevada capacidad antioxidante en la orina de los pacientes con infección del tracto urinario y una mayor presencia clonal de *E.coli* de tipo no B2 en la orina de los pacientes residentes en casas de reposo.

Palabras claves: biomarcadores, adulto mayor, filogenia, *Escherichia coli*.

Immunometabolic response in older adults with urinary tract infection and phylogenetic classification of *Escherichia coli* in elderly homes

Summary

Objectives: to characterize the immunometabolic response in the urine of elderly patients infected with uropathogenic *Escherichia coli* resident in elderly homes and determine its phylogenetic frequency. **Materials and methods:** descriptive and observational study in which 24 patients with urinary tract infection and 17 patients without urinary tract infection were enrolled. Were quantified Iron and TNF- α in urine by spectrophotometric methods, the antioxidant capacity by ABTS + * assay and the phylogenetic determination of *E. coli* by the Clermont method. **Results:** the concentration of iron, TNF- α and the antioxidant capacity in urine in patients with urinary tract infection were 175.40 $\mu\text{g} / \text{L}$, 70.11 pg / mL and 1229.75 $\mu\text{g} / \text{mL}$ eq-VitC, while in patients without infection the values were of 67.4 $\mu\text{g} / \text{L}$ ($p = 0.001$), 87.16 pg / mL ($p = 0.08$) and 1069.14 $\mu\text{g} / \text{mL}$ eq-VitC ($p = 0.61$) respectively. In addition, 11 *E. coli* belonging to group B2 and 13 grouped in non - B2 (A, B1, D and E) were found. **Conclusions:** high availability of iron in the urine of elderly patients with urinary tract infection is evidenced, which stimulates bacterial proliferation. There is a high antioxidant capacity in the urine of patients with urinary tract infection and a greater clonal presence of non-B2 type *E.coli* in the urine of patients residing in elderly homes.

Key words: biomarkers, elder, phylogeny, *Escherichia coli*.

Mensaje clave

Las infecciones del tracto urinario (ITU) son un problema recurrente en la población adulta mayor, predispuesta a sepsis por microorganismos uropatógenos, siendo *Escherichia coli* el patógeno más frecuente. Se han descrito algunos factores metabólicos que favorecen el crecimiento bacteriano en ITU,

siendo el hierro, cobalamina y aminoácidos los más estudiados. Además, la capacidad de respuesta inmune es determinante en el crecimiento bacteriano, el TNF- α es una de las primeras citoquinas expresadas que inducen la migración de neutrófilos al tracto urinario. Existen escasos estudios que hayan evaluado la respuesta inmunometabólica en adultos

mayores con ITU frente a *Escherichia coli*, por lo que estimamos importante describirla para entender la dinámica huésped – hospedero en adultos mayores con ITU.

Introducción

El número de personas mayores de 60 años aumentó de 9% a 12 % durante el decenio de 1994 a 2014 y se estima que, para el año 2050, el 21% de la población será longeva [1]. En el Perú, la población adulta mayor (PAM) se incrementó de 9,1%, en el año 2007, a 11,9% en 2017 [2].

Las enfermedades infecciosas son altamente recurrentes en la PAM, siendo las infecciones del tracto urinario (ITU) la segunda más frecuente en PAM residente en casas de reposo [3,4]. La probabilidad de desarrollar complicaciones clínicas como consecuencia de una ITU en pacientes residentes en casas de reposo (CR) es más frecuente en comparación con población geriátrica no residente en CR. Estas complicaciones pueden llevar con más frecuencia a pielonefritis, bacteriemia y, en consecuencia, hospitalización, terapia sistémica antimicrobiana, deterioro funcional y muerte [5].

Algunos de los factores de riesgo más relevantes para la adquisición de ITU en la PAM son el uso permanente de catéter vesical, incontinencia urinaria, incorrecta manipulación del adulto mayor con un alto nivel de dependencia y la resistencia bacteriana [6]; sin embargo, existen otros factores como, los metabólicos e inmunológicos, menos estudiados, que también tienen un rol relevante en la ITU [7].

El 80% de los casos de ITU en el mundo son ocasionados por *Escherichia coli* uropatógenas (ECUP), el cual presenta siete grupos filogenéticos (A, B1, B2, C, D, E y F) [8] y una distribución heterogénea en los casos de ITU. El grupo B2 es el más frecuente y patógeno, debido a su mayor capacidad de adaptación

en el fluido urinario [9]. En el proceso de colonización e infección del tracto urinario, los diversos mecanismos de virulencia expresados por *E.coli* han sido previamente documentados [10]. La expresión de exotoxinas, adhesinas y flagelos son determinantes en la proliferación del microorganismo en el tracto urinario [11]. Sin embargo, no hay evidencia de un mecanismo de virulencia dominante que no sea compartido por bacterias comensales, no patógenas [11]. Se ha observado que el metabolismo bacteriano durante el proceso infeccioso es un factor clave para mantener su supervivencia en el tracto urinario [12]. Los uropatógenos para sobrevivir en el ambiente urinario, fluido con un número limitado de nutrientes, priorizan la expresión génica de proteínas que se encargan de metabolizar nutrientes [1]. El hierro ha sido descrito como indispensable en el proceso de ITU [13], por lo que, las bacterias tienen hasta tres sistemas de absorción de hierro: sideróforos, hemóforos y a través de la captación directa de hierro en su estado ferroso [14]. Los estudios han demostrado que en orina de pacientes con ITU, los sistemas de absorción de hierro se encuentran sobreexpresados [13]. Del mismo modo, estudios de vacunación, que utilizan a los receptores de sideróforos o la proteína de unión al hemo como antígenos, muestran un efecto protector en modelos murinos con ITU [15]; además de favorecer su proceso de adaptación [16]. Por otro lado, la superficie de las bacterias gram – negativos, como en *E.coli*, presentan receptores de citoquinas proinflamatorias tipo factor de necrosis tumoral (TNF) e Interleukina – 1 (IL-1), las cuales mediante la síntesis de factores de transcripción modifican los mecanismos de virulencia bacteriano como respuesta de unión a estas [17,18].

Debido a las anteriores consideraciones, se plantea la presente investigación que tiene como objetivos caracterizar la respuesta inmunometabólica en la orina de pacientes adultos mayores infectados con *Escherichia*

coli uropatógena residentes en casas de reposo y determinar la frecuencia filogenética de *Escherichia coli* uropatógenas.

Materiales y métodos

El estudio es analítico correlacional, ejecutado en el periodo de agosto a diciembre del año 2017. Los pacientes fueron adultos mayores residentes en 5 centros gerontológicos privados de Lima - Perú. Se incluyeron en el análisis las muestras de orina de 24 pacientes con infección del tracto urinario y de 17 pacientes sin infección del tracto urinario, con la finalidad de contrastar los resultados.

Las muestras de orina fueron seleccionadas y recolectadas del laboratorio Medical Prevention. Los análisis microbiológicos e inmunometabólicos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Microbiología e Inmunología de la Universidad de Piura, con sede en Lima, y la caracterización filogenética se llevó a cabo en los Laboratorios del Grupo de Investigación y Docencia en Medicina Molecular de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Los criterios de selección de las muestras incluyeron que el paciente haya residido en un CR durante el momento de recolección de la muestra, tener 65 años o más y un tiempo no mayor a una hora entre la toma de muestra y su recepción por el laboratorio. La estandarización del análisis de sedimento urinario se realizó siguiendo las recomendaciones del Instituto de Salud de Chile [19].

Posteriormente, se separaron alícuotas de 5 mL de orina en 2 criotubos que fueron almacenadas a -20°C . El cultivo de orina se realizó con asas de siembra de $1\mu\text{L}$, en agar sangre y agar McConkey, incubándose a 37°C durante 24 horas. El criterio diagnóstico de infección del tracto urinario fue un recuento microscópico mayor a cinco leucocitos por campo a 400 aumentos, la evidencia de conversión de nitritos por el método de Griess y el recuento mayor a 100,000 unidades formadoras de colonias (UFC) en el agar sangre.

Las bacterias fueron identificadas como *Escherichia coli* (*E. coli*), utilizando los métodos bioquímicos tradicionales y luego almacenadas en caldo tripticasa de soya y glicerol al 20%.

Los resultados fueron evaluados estadísticamente con el software Epidat 4.1. Las concentraciones de los inmunometabólitos evaluados se compararon mediante la prueba Chi-cuadrado. También se elaboró la prueba no paramétrica U de Mann - Whitney. Los valores de $p < 0,05$ se consideraron significativos.

Extracción de ADN y determinación filogenética de *E.coli*

Para la extracción de ADN bacteriano se utilizó el *DNA Purification kit GeneJet Genomic*, Thermo Scientific®. Se siguió el protocolo sugerido por la casa comercial. Los *primers* utilizados para la ejecución del PCR-cuádruplex fueron los siguientes: ArpA1, TspE4C2, yjaA y chuA, las secuencias fueron tomadas de Clermont *et al* [8].

Análisis de marcadores inmunometabólicos

Para el análisis de los marcadores inmunometabólicos, las muestras de orina fueron centrifugadas a 3000 g por 10 minutos, se descartó el sedimento y preservó el sobrenadante. Se analizaron las muestras de pacientes con ITU y sin ITU.

Ensayo TNF- α en orina

La determinación de la concentración del TNF- α se llevó a cabo con un método de enzimoimmunoensayo (ELISA) de tipo directo, siguiendo el protocolo descrito por la casa comercial Sigma-Aldrich. Se validó la curva de calibración estándar con un r de 0.997. Las lecturas de absorbancia fueron realizadas en un espectrofotómetro Multiskan Go, Thermo Scientific®.

Ensayo hierro en orina

La medición de la concentración de hierro en orina se realizó por medio de un método colorimétrico de punto final a 593 nm, el protocolo utilizado fue el descrito por la casa comercial Sigma–Aldrich. Se validó la curva de calibración estándar con un r de 0.9998. Las lecturas de absorbancia fueron realizadas en un espectrofotómetro Multiskan Go, Thermo Scientific®.

Ensayo con el radical libre ABTS

El radical catiónico ABTS^{•+} se obtuvo tras la reacción del compuesto ABTS (7 mM) con persulfato de potasio (2.45 mM, concentración final), incubados a temperatura ambiente (25°C) y en oscuridad durante 16 h. Se ensayaron distintas diluciones de orina, siendo la de 1:15 la que se adecuó mejor a la curva de calibración elaborada después de siete minutos de incubación a temperatura ambiente alejado de la luz y leído a 734 nm [20]. El antioxidante de referencia, ácido ascórbico, se ensayó a una concentración de 250 µg/mL (concentración final). Los resultados se expresaron como capacidad antioxidante equivalente al ácido ascórbico (AAEAC-ABTS en µg/mL de ácido ascórbico/µL de muestra). Las lecturas de absorbancia fueron realizadas en un espectrofotómetro Multiskan Go, Thermo Scientific®.

El presente estudio obtuvo la aprobación del Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Resultados

La concentración de hierro en la orina de pacientes adultos mayores sin ITU y con ITU fue de 67,4 µg/L y 175,4 µg/L. Hubo diferencia significativa entre los dos grupos ($p = 0.001$). Los resultados se muestran en la Tabla 1. La concentración del TNF- α en orina de los pacientes con ITU fue de 70,11 pg/mL y 87,16 pg/mL en los pacientes sin ITU. No encontramos diferencia significativa entre los dos grupos ($p = 0.080$). En la evaluación de la capacidad antioxidante de la orina por medio de la técnica de ABTS se obtuvo valores de AAEAC de 1229,75 mg/mL en pacientes con ITU y de 1069,14 mg/mL en pacientes sin ITU. No encontramos diferencia significativa entre los grupos ($p = 0,612$). Se evaluó el recuento leucocitario y hemático en el examen completo de orina, en donde se encontró diferencia significativa en la cantidad de leucocitos ($p < 0.001$), pero no en la cantidad de hematíes ($p = 0.986$).

Finalmente, se encontraron 11 variantes filogenéticas de *E. coli* tipo B2 y 13 no-B2, agrupadas en A, B1, C, D, E y F. La distribución clonal se muestra en la Figura 1.

Tabla 1. Evaluación de la concentraciones de marcadores inmunometabólicos en pacientes con ITU y sin ITU con prueba no paramétrica.

Marcador	Infectados Mediana (RIQ)	No infectados Mediana (RIQ)	Valor p*
Leucocitos / µL	158 (79.8 a 466.6)	3 (3 a 12)	<0.001
Hematies/µL	18.1 (6 a 51.9)	3 (3 a 12)	0.013
Hierro (µg/L)	123.7 (87.6 a 242.7)	62.6 (49.8 a 71.3)	0.001
TNF -alfa (pg/mL)	82.6 (30 a 89.4)	88.1 (82.9 a 91.4)	0.115
Eq - Vit C real(µg/mL)	895.5 (601.4 a 1262.9)	917.8 (638.9 a 1328)	1.000

* Prueba U de Mann-Whitney
Fuente: Elaboración propia.

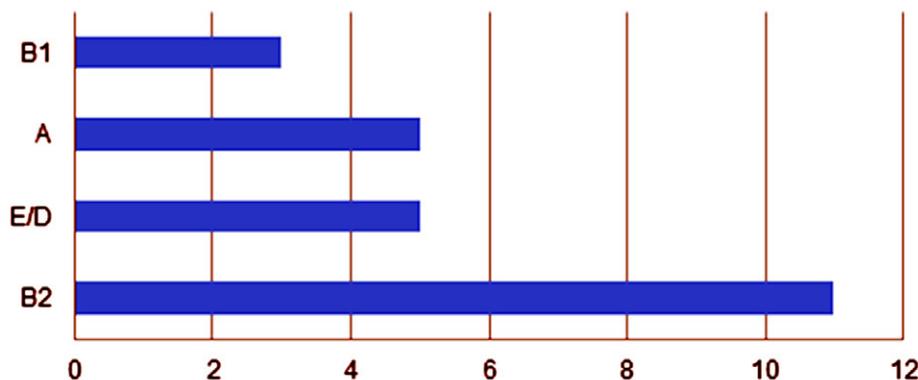


Figura 1. Distribución clonal de *Escherichia coli* en las casas de reposo.

Fuente: Elaboración propia

Discusión

La respuesta inmunometabólica disminuye con la edad frente a diversas agresiones externas como microorganismos, así como a factores internos como la presencia de células neoplásicas, entre otros [21]. Entonces en PAM con condición adicional de ITU, es de esperarse que las respuestas inmunometabólicas difieran del PAM sin ITU.

Entre los indicadores analizados, el hierro es un mineral indispensable para la salud humana pero también es un elemento indispensable en el metabolismo bacteriano [22]. Se han descrito diversos mecanismos para su captación, siendo variados y redundantes en su patrón de expresión ante el proceso de ITU [23]. En el curso de la ITU se ha reportado un aumento en la expresión de sideróforos captadores de hierro por parte de las ECUP [24]. Debido a ello, la restricción del hierro por parte del hospedero es un mecanismo de defensa que limita la sobrevivencia bacteriana [25]. La mayor concentración de hierro en orina de pacientes con ITU en comparación con los pacientes sin ITU indica la expresión de un alto número de factores citotóxicos (el factor citotóxico necrotizante y la hemolisina, por ejemplo), los cuales realizan procesos lítico celulares que vierten al medio extracelular el hierro almacenado en

las células [26] y genera un aumento en el estrés oxidativo. Lo señalado cobra mayor sustento ante la mayor presencia de hematíes en pacientes con ITU frente a los sin ITU ($p=0,013$)

El TNF- α , producido por los macrófagos centinelas de la vejiga,

permite el reclutamiento de los neutrófilos, estimulando la expresión de la metaloproteína-9 [27]. Además de los macrófagos, existen otras estirpes celulares que tienen la capacidad de sintetizar y liberar al TNF- α . Por ejemplo, los mastocitos y las células NK, ubicados en la mucosa vesical, también sintetizan TNF- α ; sin embargo, no se conoce la función que realizan [28]. Se cree que el hecho de no encontrar una diferencia significativa en la concentración de TNF- α entre los grupos de estudio, a pesar de una mayor concentración de leucocitos en los pacientes con ITU, se debe a la elevada desviación estándar del analito en el curso de infección, lo cual refleja una capacidad de respuesta y estado en el proceso infeccioso diferenciado. Hay que tomar en consideración que la respuesta antiinflamatoria post-infección tiene un rol importante en el proceso infeccioso, ya que permite contener la respuesta inmune y evita injurias tisulares en el tejido periférico [29]. También hay que considerar que las ECUP evaden el sistema inmune, suprimiendo la expresión de las citoquinas y quimiocinas, lo cual genera una variación en la concentración detectada de TNF- α [30]. Por otro lado, la alta concentración de TNF- α sin ITU guarda relación con un estado inmunológico permanentemente activado en la PAM.

La medición de la capacidad antioxidante de la orina (CAO) fue teorizada como un marcador de respuesta inmunológico, considerando que un aumento de radicales libres en el proceso de envejecimiento y en situaciones de

infección conllevan a una reducción de la respuesta inmune. En el análisis previo al estudio, se creyó que una menor CAO corresponde a una mayor tasa de consumo de los compuestos que configuran la capacidad antioxidante en la orina. En la respuesta del hospedero frente a la ITU, la producción de sustancias reactivas al oxígeno (ROS) es el mecanismo más importante para eliminar a las ECUP [31]. Por lo que una menor CAO cuantificada representaría una mayor respuesta inmune frente a las ECUP. En el análisis estadístico de los resultados de la prueba de ABTS, no se pudo encontrar diferencia significativa entre los grupos de estudio, básicamente por una distorsión de la DS derivada de valores extremos, por lo que hemos teorizado tres posibilidades. Primero, es posible que el hierro y leucocitos en la orina fueran interferentes en la prueba de ABTS, reduciendo al radical ABTS. Segundo, considerando que las bacterias generan, como mecanismo de defensa, moléculas antioxidantes con las cuales pueden contrarrestar el efecto de ROS generados por las células inmunitarias. *E. coli* posee sistemas enzimáticos que le permiten defenderse de los efectos del estrés oxidativo (catalasas, superóxido dismutasa, glutatión sintetasa, hidropéroxido reductasa y glutatión reductasa); además, de compuestos no enzimáticos, el glutatión reducido, tiorredoxina, ubiquinona y menaquinona, estando estos dos últimos asociados a nivel de la membrana, configuran un gran reservorio para contrarrestar el efecto de las ROS producidos en su interacción con las células inmunitarias [32]. En estudios previos, se ha demostrado que las ECUP con un sistema de defensa antioxidante más activo incrementan su capacidad de colonización en la vejiga [33], por lo que podríamos sugerir que la CAO analizada corresponde no solo a la otorgada por el hospedero, sino también por las ECUP, lo cual nos podría indicar que parte de la capacidad de supervivencia de las ECUP se debe a su gran sistema de defensa antioxidante, fenómeno poco estudiado en

ITU. Por otro lado, consideramos que la PAM residente en CR presenta una dieta suplementada y que la ingesta de productos, como el arándano rojo en jugo (cranberry) y la vitamina C, los cuales tienen un uso extendido en la prevención de las ITU [34], contienen una alta capacidad antioxidante debido a sus componentes fenólicos y capacidad reductora [35].

Las ECUP pueden dividirse en 7 grupos filogenéticos, designados como: A, B1, B2, C, D, E y F [36]. En el estudio obtuvimos que el 45,8% de las ECUP pertenecen al grupo B2. La alta prevalencia del grupo B2 se debe, a la mayor frecuencia de genes de virulencia en relación a los demás grupos clonales, lo que ocasiona una mayor propensión de infección en el tracto urinario. Esto guarda relación con el alto nivel de dependencia que presentan los residentes de los centros gerontológicos, que potencia la colonización del paciente y el desencadenamiento de la infección en el tracto urinario. Finalmente, como se ha observado en otros estudios, la elevada frecuencia del grupo B2, coincide con otros estudios realizados [37].

Conclusiones

En la respuesta inmunometabólica de los pacientes adultos mayores con ITU, se evidencia una alta disponibilidad de hierro en la orina, lo cual estimula la proliferación bacteriana. Además, hay una capacidad antioxidante incrementada en la orina de los pacientes con ITU la cual tiene que ser corroborada con otros métodos, debido a que el hierro y los leucocitos pueden haber sido interferentes reductores del ABTS⁺. Asimismo, se observó una predominancia en la *E. coli* - B2. Finalmente, es importante seguir estudiando la respuesta inmunometabólica de la PAM que permitan encontrar factores y/o estrategias que limiten la recurrencia de ITU en PAM.

Limitaciones

La metodología de investigación de tipo transversal no permitió determinar el estado de

la infección en los pacientes, lo cual configura una importante dificultad en el análisis de los resultados. Por otro lado, en futuros estudios se deberían ensayar otras metodologías para la determinación de la capacidad antioxidante ya que la empleada en este estudio pudo estar sesgada positivamente por la elevada concentración de hierro.

Conflictos de intereses: los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Fuentes de financiación: financiado por el Vicerrectorado de Investigación y Posgrado de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
Código del proyecto: A17011681 - Grupo de investigación y Docencia en Medicina Molecular.

Literatura citada

1. Segura-Cuenca MC, Conejero-Paz E. **Políticas de envejecimiento: ¿un dilema sin resolver?** *3C Empres Investig y Pensam crítico* 2016; 5(4):58-74. DOI: <http://dx.doi.org/10.17993/3cemp.2016.050428.58-74>
2. Blouin, C. **La situación de la población adulta mayor en el Perú: Camino a una nueva política.** Lima, Perú: Instituto de Democracia y Derechos Humanos de la Pontificia Universidad Católica del Perú; 2018.
3. Montoya A, Mody L. **Common infections in nursing homes: A review of current issues and challenges.** *Aging Health* 2011; 7(6):889-899. DOI: 10.2217/AHE.11.80
4. Stevenson KB, Moore J, Colwell H, Sleeper B. **Standardized Infection Surveillance in Long-Term Care: Interfacility Comparisons From a Regional Cohort of Facilities.** *Infect Control. Hosp Epidemiol* 2006; 26(3): 231 – 238, DOI: 10.1086/502532
5. Nicolle LE. **Urinary Tract Infections in the Older Adult.** *Clin Geriatr Med* 2016; 32(3):523-38. DOI: 10.1016/j.cger.2016.03.002
6. Buhr GT, Genao L, White HK. **Urinary tract infections in long-term care residents.** *Clin Geriatr Med* 2011; 27(2):229-39. DOI: 10.1016/j.cger.2011.01.007
7. Alteri CJ, Smith SN, Mobley HLT. **Fitness of Escherichia coli during urinary tract infection requires gluconeogenesis and the TCA cycle.** *PLoS Pathog* 2009; 5(5):e1000448. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000448
8. Clermont O, Christenson JK, Denamur E, Gordon DM. **The Clermont Escherichia coli phylo-typing method revisited: Improvement of specificity and detection of new phylo-groups.** *Environ Microbiol Rep* 2013; 5(1):58-65. DOI: 10.1111/1758-2229.12019
9. Grodzicki T. **Molecular characterization and drug resistance of Escherichia coli strains isolated from urine from long-term care facility residents in Cracow, Poland.** *Med Sci Monit* 2013; 1(19):317-26. DOI: 10.12659/MSM.883898
10. Simmering JE, Tang F, Cavanaugh JE, Polgreen LA, Polgreen PM. **The increase in hospitalizations for urinary tract infections and the associated costs in the United States, 1998-2011.** *Open Forum Infect Dis* 2017;4(1):1–7. DOI: 10.1093/ofid/ofw281
11. Alteri CJ, Mobley HLT. **Metabolism and Fitness of Urinary Tract Pathogens.** *Microbiol Spectr.* 2015;3(3):1–12. DOI: 10.1128/microbiolspec.MBP-0016-2015
12. Snyder JA, Haugen BJ, Buckles EL, Lockatell CV, Johnson DE, Donnenberg MS, et al. **Transcriptome of uropathogenic Escherichia coli during urinary tract infection.** *Infect Immun* 2004;72(11):6373–81. DOI: 10.1128/IAI.72.11.6373-6381.2004
13. Lüthje P, Brauner A. **Virulence Factors of Uropathogenic E. coli and Their Interaction with the Host.** *Adv Microb Physiol* 2014; 65:337–72. DOI: 10.1016/bs.ampbs.2014.08.006
14. Hannan TJ, Mysorekar IU, Hung CS, Isaacson-Schmid ML, Hultgren SJ. **Early severe inflammatory responses to uropathogenic E. coli predispose to chronic and recurrent urinary tract infection.** *PLoS Pathog* 2010; 6(8):29–30. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001042>
15. Richards CL. **Urinary tract infections in the frail elderly: Issues for diagnosis, treatment and prevention.** *Int Urol Nephro* 2004; 36(3):457–63. DOI: 10.1007/s11255-004-4870-6
16. Meduri GU, Kanangat S, Stefan J, Tolley E, Schaberg D. **Cytokines IL-1 β , IL-6, and TNF- α enhance in vitro growth of bacteria.** *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160(3):961-967 DOI: 10.1164/ajrcm.160.3.9807080
17. Zav'yalov VP, Chernovskaya T V., Navolotskaya E V., Karlyshev A V., MacIntyre S, Vasiliev AM, et al. **Specific high affinity binding of human interleukin 1 β by Caf1A usher protein of Yersinia pestis.** *FEBS Lett* 1995; 371(1):65–8. DOI: [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(95\)00878-D](https://doi.org/10.1016/0014-5793(95)00878-D)

18. Lee JH, Del Sorbo L, Khine A, Azavedo J, Low D, Bell D, et al. **Modulation of bacterial growth by tumor necrosis factor- α in vitro and in vivo.** *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168(12):1462-1470. DOI: <https://doi.org/10.1164/rccm.200302-303OC>
19. Brunzel N. **Fundamentals of Urine and Body Fluid.** Tercera edición. Minneapolis, Minnesota: Editorial Saunders; 2004.
20. Re R, Pellegrini, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. **Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay.** *Free radical biology and medicine* 1999; 26(9-10):1231-1237. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
21. Kline KA, Bowdish DME. **Infection in an aging population.** *Curr Opin Microbiol* 2016; 29:63-7. DOI: [10.1016/j.mib.2015.11.003](https://doi.org/10.1016/j.mib.2015.11.003)
22. Vigil PD, Stapleton AE, Johnson JR, Hooton TM, Hodges AP, He Y, et al. **Presence of putative repeat-in-toxin gene *tosA* in escherichia coli predicts successful colonization of the urinary tract.** *M Bio* 2011; 2(3):e00066-11. DOI: [10.1128/mBio.00066-11](https://doi.org/10.1128/mBio.00066-11)
23. Garcia EC, Brumbaugh AR, Mobley HLT. **Redundancy and Specificity of Escherichia coli Iron Acquisition Systems during Urinary Tract Infection.** *Infect Immun* 2011; 79(3):1225-1235. DOI: [10.1128/IAI.01222-10](https://doi.org/10.1128/IAI.01222-10)
24. Hagan EC, Lloyd AL, Rasko DA, Faerber GJ, Mobley HLT. **Escherichia coli global gene expression in urine from women with urinary tract infection.** *PLoS Pathog* 2010; 6(11): e1001187. DOI: [10.1371/journal.ppat.1001187](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001187)
25. Bullen JJ. **The Significance of Iron in Infection.** *Clin Infect Dis* 2011; 3(6):1127-1138.
26. Burman WJ, Breese PE, Murray BE, Singh K V., Batal HA, MacKenzie TD, et al. **Conventional and molecular epidemiology of trimethoprim-sulfamethoxazole resistance among urinary Escherichia coli isolates.** *Am J Med* 2003; 115(5):358-364. DOI: [10.1016/s0002-9343\(03\)00372-3](https://doi.org/10.1016/s0002-9343(03)00372-3)
27. Zec K, Volke J, Vijitha N, Thiebes S, Gunzer M, Kurts C, et al. **Neutrophil Migration into the Infected Uroepithelium Is Regulated by the Crosstalk between Resident and Helper Macrophages.** *Pathogens* 2016; 5(1):15. DOI: [10.3390/pathogens5010015](https://doi.org/10.3390/pathogens5010015)
28. Schlager TA. **The Pathogenesis of Urinary Tract Infections.** *Pediatr Ann* 2014; 28(10):639-42.
29. Abraham SN, Miao Y. **The nature of immune responses to urinary tract infections.** *Nature Reviews Immunology.* *Nature Reviews Immunology* 2015; 15(10):655-63. doi: [10.1038/nri3887](https://doi.org/10.1038/nri3887)
30. Hunstad DA, Justice SS, Hung CS, Lauer SR, Hultgren SJ. **Suppression of bladder epithelial cytokine responses by uropathogenic Escherichia coli.** *Infect Immun* 2005; 73(7):3999-4006. DOI: [10.1128/IAI.73.7.3999-4006.2005](https://doi.org/10.1128/IAI.73.7.3999-4006.2005)
31. Nielubowicz GR, Mobley HLT. **Host-pathogen interactions in urinary tract infection.** *Nature Reviews Urology* 2010; 7(8):430-41. DOI: [10.1038/nrurol.2010.101](https://doi.org/10.1038/nrurol.2010.101)
32. Farr SB, Kogoma T. **Oxidative stress responses in Escherichia coli and Salmonella typhimurium.** *Microbiol Rev* 1991; 55(4):561-585.
33. Johnson JR, Clabots C, Rosen H. **Effect of inactivation of the global oxidative stress regulator *oxyR* on the colonization ability of Escherichia coli O1:K1:H7 in a mouse model of ascending urinary tract infection.** *Infect Immun* 2006; 74(1):461-8. DOI: [10.1128/IAI.74.1.461-468.2006](https://doi.org/10.1128/IAI.74.1.461-468.2006)
34. Vasileiou I, Katsargyris A, Theocharis S, Giaginis C. **Current clinical status on the preventive effects of cranberry consumption against urinary tract infections.** *Nutrition Research* 2013; 33(8):595-607. doi: [10.1016/j.nutres.2013.05.018](https://doi.org/10.1016/j.nutres.2013.05.018)
35. Baranowska M, Bartoszek A. **Antioxidant and antimicrobial properties of bioactive phytochemicals from cranberry.** *Postepy Hig Med Dosw* 2017; 70(0):1460-1468. DOI: [10.5604/17322693.1227896](https://doi.org/10.5604/17322693.1227896)
36. Bonacorsi P, Clermont O, Bingen E. **Rapid and Simple Determination of the Escherichia coli Phylogenetic Group.** *Appl Environ Microbiol* 2000; 66(10):4555-8. DOI: [10.1128/aem.66.10.4555-4558.2000](https://doi.org/10.1128/aem.66.10.4555-4558.2000)
37. Zhao R, Shi J, Shen Y, Li Y, Han Q, Zhang X, et al. **Phylogenetic distribution of virulence genes among ESBL-producing uropathogenic escherichia coli isolated from long-term hospitalized patients.** *J Clin Diagnostic Res* 2015; 9(7):1-4. DOI: [10.7860/JCDR/2015/13234.6157](https://doi.org/10.7860/JCDR/2015/13234.6157)

