



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA

**TESIS DOCTORAL**

**Caracterización epidemiológica y clínica de la infección y colonización por**

***Escherichia coli* perteneciente al complejo clonal O25b/ST131**

**AUTOR**

**Isabel María Morales Barroso**

**TUTOR**

**Jerónimo Pachón Díaz**

Catedrático emérito, Departamento de Medicina

Universidad de Sevilla

**DIRECTORES**

**Jesús Rodríguez Baño**

Profesor titular, Departamento de Medicina  
Universidad de Sevilla.

**Álvaro Pascual Hernández**

Catedrático de Microbiología  
Universidad de Sevilla.



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA

Los Doctores Jesús Rodríguez Baño, Profesor Titular del Departamento de Medicina de la Universidad de Sevilla, y Álvaro Pascual Hernández, Catedrático de Microbiología de la Universidad de Sevilla,

CERTIFICAMOS:

Que la tesis para optar al grado de Doctor por la Universidad de Sevilla que lleva por título: **Caracterización epidemiológica y clínica de la infección y colonización por *Escherichia coli* perteneciente al complejo clonal O25b/ST131** ha sido realizada por D. Isabel Maria Morales Barroso bajo nuestra supervisión, considerando que reúne los requisitos necesarios para su presentación.

Y para que conste donde proceda firmamos el presente certificado en Sevilla  
a 12 de Julio de 2020

Jesús Rodríguez Baño

Álvaro Pascual Hernández

## Agradecimientos

*A mi familia,*

*A mi familia de infecciosas ... Ana, Charo, Gertru, M Dolores, Zaira, Virginia, Pilar, Dori, Juan Galvez, Miguel Ángel, Ángel, M José, Edi, Jose, Belén, Jesús Sojo.... siempre dispuestos a ayudar en todo lo que hiciera falta.*

*A mi familia del despachito ... ay mis niñas!!!! Cuantos ratos juntas trabajando, dándonos fuerzas, apoyo en los días nublados. Gracias por formar parte de las risas y calidez que desprendía el despacho. A Virginia por ser como una hermana todos estos años; a Zaira por enseñarme que todo es posible; y Belén por sorprenderme siempre, ... y por su selección musical ... siempre un acierto.*

*A mis compañeros de microbiología, sobretodo a Lorena, Lara y Eva ... hubiera sido imposible si ellas.*

*A mi tutores, que forman parte de esta gran familia que hemos formado en el hospital, porque sin ellos esto no hubiera sido posible. Gracias Álvaro, por enseñarme tu buen hacer y tu profesionalidad. Gracias Jesús, ... la palabra "gracias" se queda corta ... imposible plasmar aquí tu ayuda y apoyo durante estos años.*

*Por ultimo, a mis padre y mis hermanos, pilar indispensable en mi vida ... sin ellos yo no sería la persona que soy hoy.*

*Como he dicho al principio, gracias a mi GRAN familia.*

## INDICE DE ABREVIATURAS y SIGLAS

- MLST: Tipificación multilocus de secuencias
- PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa
- ETEC : *E. coli* enterotoxigénica .
- EAEC : *E. coli* enteroagregativa
- DAEC : *E. coli* de adherencia difusa.
- EHEC: *E. coli* enterohemorrágica
- EIEC : *E. coli* enteroinvasiva
- EPEC : *E. coli* enteropatógena
- ExPEC: *E. coli* patógeno extraintestinal
- EIEC: invasión del epitelio
- ITU: Infección del tracto urinario
- BLEE :  $\beta$ - lactamasas de espectro extendido
- MBLs : Metallo- $\beta$ -lactamasas
- EDTA: Ácido etileno-diamino-tetra-acético

Agradecimientos.....	3
Indice De Abreviaturas Y Siglas.....	4
Tesis Como Compendio De Artículos Previamente Publicados .....	6
Introducción.....	8
Justificación.....	30
Hipótesis .....	31
Objetivos .....	31
Resultados.....	32
INTESTINAL COLONIZATION DUE TO ESCHERICHIA COLI ST131: RISK FACTORS AND PREVALENCE. ....	32
BACTERAEMIA DUE TO NON-ESBL-PRODUCING ESCHERICHIA COLI O25B:H4 SEQUENCE TYPE 131: INSIGHTS INTO RISK FACTORS, CLINICAL FEATURES AND OUTCOMES. ....	39
Discusión.....	50
Conclusiones .....	59
Bibliografía .....	60

Tesis como compendio de artículos previamente publicados

Esta tesis, de acuerdo con el informe correspondiente y la autorización de los directores de la misma y del órgano responsable del Programa de Doctorado, se presenta como un compendio de artículos. Las referencias completas a los artículos que componen el cuerpo de la tesis son las siguientes:

**Morales-Barroso I**, López-Cerero L, Molina J, Bellido M, Navarro MD, Serrano L, González-Galán V, Praena J, Pascual A, Rodríguez-Baño J. Bacteraemia due to non-ESBL-producing *Escherichia coli* O25b:H4 sequence type 131: insights into risk factors, clinical features and outcomes. *Int J Antimicrob Agents*. 2017; 49(4): 498-502. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2016.12.013.

**Morales Barroso I**, López-Cerero L, Navarro MD, Gutiérrez-Gutiérrez B, Pascual A, Rodríguez-Baño J. Intestinal colonization due to *Escherichia coli* ST131: risk factors and prevalence; *Antimicrob Resist Infect Control*. 2018; 7: 135. doi: 10.1186/s13756-018-0427-9.

Otros trabajos resultados de este proyecto:

Torres E, López-Cerero L, **Morales I**, Navarro MD, Rodríguez-Baño J, Pascual A. Prevalence and transmission dynamics of *Escherichia coli* ST131 among contacts of infected community and hospitalized patients. *Clin Microbiol Infect*. 2018; 24(6): 618-623. doi: 10.1016/j.cmi.2017.09.007.

## INTRODUCCIÓN

### 1. *Escherichia coli*

Este microorganismo fue descubierto en 1885 por Theodor Escherich (1857 – 1911) (Escherich, 1885). Es una de las especies bacterianas más estudiadas, tanto en lo referente a sus capacidades patógenas, como sustrato y modelo de investigaciones metabólicas, genéticas y poblacionales, y desde el punto de vista epidemiológico y su impacto clínico (Humbert et al., 2000; Uzzau y Fasano, 2000).

*E. coli* se clasifica como parte de la familia *Enterobacteriaceae*, dentro del orden *Enterobacterales* (Adeolu 2016). Estas bacterias son de rápido crecimiento y amplia distribución en el suelo, agua, animales y vegetales. De todas las especies del género *Escherichia*, *E. coli* es la más importante para el ser humano. Forma parte de la microbiota intestinal de animales homeotermos, y es la bacteria anaerobia facultativa más abundante en el intestino grueso del ser humano. Incluye aislados comensales y otros que pueden causar infecciones intestinales y extraintestinales (Kaper JB, 2004). Entre las infecciones más comunes producidas por *E. coli* se encuentran las infecciones del tracto urinario (80- 90%), seguidas de bacteriemias, meningitis y diarreas (Jorge G, 2012).

#### 1.1 Grupos filogenéticos

En el año 1987, Ochman y Selander seleccionaron 72 cepas aisladas de especies humanas y 16 de otros mamíferos representativas de la variedad enzimática de *E. coli*. Esta colección se denominó “colección estándar de referencia” (ECOR) (Ochman H, 1984). Para estudiar su relación filogenética, se analizaron los grupos (*clusters*) obtenidos mediante *multilocus enzyme electrophoresis* (MLEE) de 35 *loci* de las cepas de esta colección, y se definieron 6 grupos filogenéticos principales: A, B1, B2, C, D y E (Figura 1) (Selander RK, 1987). En un análisis posterior de 38 *loci* (Herzer PJ, 1990)



utilizando un algoritmo de agrupación más robusto, se obtuvieron 4 grupos principales: A, B1, B2 and D, y unas pocas secuencias sin clasificar que, en ocasiones, eran referidas al grupo E. El grupo C, inicialmente definido, no se identificó en este estudio y no se usó más adelante. Posteriormente, sin embargo, se apreció que esta técnica puede conducir a la asignación errónea de algunos aislados a un filogrupo concreto (Bisercic M, 2006).

El desarrollo de las técnicas de tipación molecular ha permitido asignar los aislados a los filogrupos de forma rápida y con un alto grado de concordancia con la técnica de MLEE. La primera técnica que lo permitió fue una PCR múltiple basada en la presencia o ausencia de tres secuencias de ADN de la parte conservada del genoma (Clermont O, 2000. Modificaciones posteriores de esta técnica aportaron mayor sensibilidad y fiabilidad (Doumith M, 2012).

Posteriormente, el uso de la técnica de *multilocus sequence typing* (MLST) se han establecido 8 filogrupos en lugar de 4, de los cuales 7 pertenecen a *E. coli* en sentido estricto (A, B1, B2, C, D, E y F) y uno corresponde a *Escherichia* grupo I (Luo C, 2011). Para determinar todos los filogrupos, Clermont y cols. desarrollaron una PCR cuádruple con cebadores modificados (Clermont O, 2013) que permite clasificar con rapidez los aislados en los filogrupos determinados por MLST.

La importancia de determinar la pertenencia a uno y otro grupo filogenético en los aislados de *E. coli* se debe a que, además de obtener información sobre su nicho ecológico principal y sus características evolutivas, está relacionado en parte con aspectos patogénicos (Gordon DM, 2008), como veremos más abajo. Así, los aislados comensales pertenecen típicamente a los grupos filogenéticos A y B1, y se caracterizan por carecer de muchos de los determinantes de virulencia presentes en los aislados patógenos (Johnson JR, 1991). Los aislados causantes de infecciones intestinales se incluyen en los grupos filogenéticos A, B1 y D (Johnson JR and, 1991) y presentan una combinación de determinantes de virulencia que da lugar a mecanismos de patogenia bien diferenciados, y que causan típicamente estas infecciones y sus complicaciones. Los aislados patógenos extraintestinales (*extraintestinal pathogenic E. coli*, ExPEC) pertenecen principalmente al grupo filogenético B2 y, en menor medida, al D (Johnson

JR and, 1991), y producen una serie de factores de virulencia que les posibilita causar infecciones fuera del tubo digestivo (infecciones urinarias y otras) (Johnson JR, 1991).

Asimismo, la filogenia se ha relacionado clásicamente con la resistencia a antimicrobianos. Por ejemplo, hace años ya se describió que los aislados resistentes a fluorquinolonas se concentraban en los filogrupos B1 y D, precisamente los filogrupos ExPEC (Johnson JR, 2002).

## 1.2 Características patogénicas de *E. coli*

La capacidad de causar infección en los distintos aislados de *E. coli* es variable y, en función de ella, se pueden distinguir tres grupos principales: *E. coli* comensal, *E. coli* patógeno intestinal y *E. coli* patógeno extraintestinal.

### *E. coli* comensal

Las cepas comensales de *E. coli* constituyen gran parte de la microbiota del intestino del ser humano, otros mamíferos y aves. Son cepas perfectamente adaptadas a la coexistencia con su hospedador. *E. coli* coloniza el tracto gastrointestinal y establece con el hospedador una relación estable de mutua beneficio como integrante de la microbiota. Su presencia en el agua y los alimentos es un indicador de contaminación fecal reciente (Humbert et al., 2000).

### *E. coli* patógeno intestinal

*E. coli* puede causar infecciones intestinales. Según la patogénesis y características epidemiológicas, se han definido 6 patotipos (es decir, grupos de aislados que tienen determinados factores de virulencia comunes): *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* de adherencia difusa (DAEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) y *E. coli* enteropatógena (EPEC). Los tres primeros son causantes de diarreas acuosas, mientras que los tres últimos producen diarreas sanguinolentas y/o invasivas. Los mecanismos de acción son diferentes según el patotipo: producción de toxinas (ETEC, EHEC, EAEC), factores de

adherencia (EHEC, EPEC, EAEC, DAEC) e invasión del epitelio (EIEC) (Domingue et al., 1985; Alonso et al., 1987; Blanco et al., 1996; Blanco et al., 1997; Donnenberg y Whittan, 2001; Fecteau et al., 2001; Arbeloa et al., 2009).

### *E. coli* patógeno extraintestinal (ExPEC)

*E. coli* es uno de los microorganismos que con mayor frecuencia se asocia con infecciones extraintestinales, tanto en seres humanos como en los animales. Dentro de las infecciones que provoca se incluyen las infecciones del tracto urinario (ITU) y genital, meningitis, infecciones intraabdominales incluyendo biliares, peritonitis y abscesos intraabdominales, infecciones pulmonares, y de piel y partes blandas (Dominguez et al., 1985; Blanco et al., 1991; Blanco et al., 1996; Dalmau et al., 1996; Blanco et al.; Abe et al., 2008; Houdouin et al., 2008; Manges et al., 2008; Mora et al., 2009). En general, *E. coli* se considera responsable del 20% al 30% de las bacteriemias de la comunidad y del 20% de las nosocomiales. Las bacteriemias por *E. coli* se originan sobre todo en el tracto urinario y en la cavidad intraabdominal. Las infecciones invasivas por *E. coli*, aunque pueden afectar a personas sanas, son más frecuentes en individuos con enfermedades crónicas. En los últimos 20 años se ha apreciado un aumento significativo de las resistencias a antimicrobianos en las cepas de *E. coli* bacteriémicas (Javaloyas, 2003; Oteo et al., 2006; Jones et al., 2008; Naseer et al., 2009).

Se postularon en su momento dos teorías acerca de la relación entre las cepas fecales de *E. coli* y las causantes de ITU. En la teoría de la prevalencia se mantenía que las ITU estarían habitualmente causadas por las cepas de *E. coli* más abundantes en la flora intestinal. La teoría de la especial patogenicidad apoya la idea de que solo determinadas cepas con factores de virulencia son capaces de producir las infecciones extraintestinales. Diversos estudios realizados en las décadas de los ochenta y noventa del siglo pasado confirman la validez de la teoría de la especial patogenicidad (Korhonen et al., 1985; Orskov y Orskov, 1985; Blanco et al., 1991; Blanco et al., 1996).

### **1.3 Factores de virulencia en ExPEC**

Como hemos visto, los aislados ExPEC pueden causar distintas infecciones, lo que se ha asociado con la presencia de varios factores de virulencia (Russo TA, 2000; Picard B; 1999). Cabe mencionar que en algunos estudios se comete el error de englobar dentro del patotipo ExPEC a cualquier cepa de *E. coli* aislada de una infección extraintestinal, aunque el criterio para definir las cepas ExPEC se basa en la presencia de determinados factores de virulencia, y en general, se acepta que deben producir dos de los siguientes: *papC* o *papAH*, *sfa/foc*, *afa/dra*, *iutA* y *kpsM II* (Johnson JR, 2003). En general, las cepas ExPEC poseen distintos tipos de factores de virulencia que contribuyen conjuntamente a potenciar su patogenia, por lo que se considera que su virulencia es un fenómeno multifactorial. A continuación, se describen los siguientes factores de virulencia.

#### Adhesinas

Son proteínas implicadas en la unión de la bacteria a las células epiteliales del tracto urinario. Incluyen la fimbria común tipo 1 (*fimH*), la fimbria tipo P (*papG*) (Vigil PD, 2011) y la fimbria tipo S (Spurbeck RR, 2011), además de la adhesina Afa/Drs (Fang L, 2004).

La expresión de las fimbrias está regulada para expresarse en función del tejido al que unirse. Así, en la vejiga se expresan las de tipo 1, pero en el riñón dejan de expresarse y comienzan a hacerlo las de tipo P y S. Esta regulación jerárquica permite la expresión exclusivamente de las fimbrias necesarias, limitando su exposición al sistema inmune (Lindberg S, 2008).

#### Toxinas

En general se trata de proteínas citotóxicas que actúan destruyendo las células del hospedador, para facilitar la diseminación tisular y adquisición de nutrientes y otros factores necesarios durante la infección. Incluyen, entre otras, la  $\alpha$ -hemolisina (*Hly*), presente con frecuencia en cepas causantes de infecciones urinarias y sepsis, entre otras, y que contribuye al suministro de hierro a la bacteria (Wiles TJ, 2008); Sat

(*secreted autotransporter toxin*) presente principalmente en cepas causantes de pielonefritis, que provoca efectos citopáticos sobre células del riñón y de la vejiga (Guyer DM, 2002); CDT (*cytolethal distending toxin*), que presenta actividad catalítica y de la que se conocen 5 variantes (Dubois D, 2010); y CNF (*cytotoxic necrotizing factor*), de la que se conocen 3 tipos, de los cuales las cepas ExPEC causantes de infección urinaria y sepsis producen la variedad CNF1 (Blanco M, 1997; Blanco J, 1990).

### Sideróforos

Los sideróforos son sistemas de captación del hierro que las bacterias han desarrollado, ya que al estar éste secuestrado en hemoproteínas o en proteínas transportadoras de hierro en el huésped, la dificultad de su captación es un factor limitante de su capacidad infectiva (Skaar EP, 2010). Estos captadores de hierro se sintetizan en el citoplasma, posteriormente son secretados, captan el hierro gracias a la elevada afinidad que tienen por él, se internalizan y liberan el hierro en el citoplasma de la bacteria (Garénaux A, 2011).

### Proteínas involucradas en la resistencia al suero y a la fagocitosis

Entre las proteínas involucradas en la resistencia al suero se encuentran las lipoproteínas Iss (*increased serum survival*), que incrementan la supervivencia al suero y las TraT, las cuales aumentan la resistencia de la bacteria a la acción del complemento, produciendo una disminución de la interacción de la membrana bacteriana con el complemento y, como consecuencia, reduciendo la fagocitosis (Sukupolvi S, 1990). Además, la cápsula juega un papel protector contra la fagocitosis y la actividad bactericida del suero (Whifield C, 2006).

### Producción de biopelícula

Otro factor de virulencia que ayuda a la supervivencia de las bacterias y a la capacidad invasiva gracias a la formación de biopelícula es IbeA (*invasion of brain endothelium*), que también se ha asociado a la producción de meningitis en recién

nacidos (Wang S, 2011).

#### 1.4 Relación entre virulencia y resistencia a antimicrobianos

La virulencia de las cepas ExPEC, entendida como su capacidad de causar infección, se ha considerado clásicamente que tenía una relación inversa con la resistencia a antimicrobianos; esto fue inicialmente claro en el caso de la resistencia a fluorquinolonas, de modo que las cepas uropatógenas de *E. coli* resistentes a fluorquinolonas presentaban menos genes codificantes de factores de virulencia en comparación con las cepas sensibles. En un estudio se estudió la frecuencia de  $\beta$ -hemólisis y de la expresión del gen *papEF*, codificante de una adhesina, en una serie de aislados canadienses de *E. coli* tanto comunitarios como nosocomiales durante los años 2003-2004; tanto la  $\beta$ -hemólisis como la presencia de *papEF* en aislados comunitarios y nosocomiales fueron significativamente menos frecuentes entre los aislados de *E. coli* resistentes a fluorquinolonas que entre los sensibles (Drews SJ, 2005). En otro estudio, otros factores de virulencia como *papG allele II*-variante de la adhesina P, *kpsMTK1*-variante de *kpsM* y *hlyA*-hemolisina fueron más frecuentes en los aislados sensibles a fluorquinolonas (Lavigne J, 2004). En una colección de aislados de *E. coli* procedentes de muestras hospitalarias recogidas durante los años 1998-1999 y 2002, Johnson y cols. estudiaron la presencia de 35 marcadores de virulencia, detectándose mayor número de estos entre los aislados sensibles a fluoroquinolonas, siendo en 3 de ellos estadísticamente significativa la diferencia: *fyuA* (sideróforo), *kpsMT II* y *ompT* (proteasa de la membrana externa (Johnson JR, 2002).

Como se verá más adelante, esta correlación inversa no ocurre en los aislados resistentes a quinolonas pertenecientes al complejo clonal ST131, siendo éste uno de los aspectos que despertó mayor interés por dicho complejo clonal.

## 2. Resistencia a antimicrobianos en *E. coli*

La resistencia a los antimicrobianos en las bacterias puede ser natural (intrínseca) o adquirida. La resistencia natural es propia de cada familia, especie o grupo

bacteriano para determinados antimicrobianos, y esta situación no es variable. La mayoría de las veces se debe a la ausencia de diana o la imposibilidad de alcanzarla. La resistencia adquirida sí es variable y puede originarse por la adquisición de determinantes de resistencia a través de elementos genéticos móviles, o por la aparición de mutaciones cromosómicas. La diseminación de los genes de resistencia puede producirse por la transmisión de determinados clones bacterianos que los portan (los llamados clones exitosos o de alto riesgo), por su transmisión entre distintas especies bacterianas o clones a través de elementos genéticos móviles, o por una combinación de ambas.

En las últimas décadas, las resistencias a antimicrobianos han aumentado de forma muy llamativa en diversas especies bacterianas. De hecho, organismos como la Organización Mundial de la Salud (OMS) o el Centro Europeo de Control y Prevención de Enfermedades (ECDC) han situado la lucha frente a las resistencias microbianas como una prioridad de salud pública a nivel mundial. (WHO, 2020; ECDC, 2020) El problema es particularmente grave en el caso de las bacterias gramnegativas; de hecho, los 3 microorganismos o grupos de microorganismos que la OMS incluye como prioridad crítica son bacterias gramnegativas: *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenemas, *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenemas y enterobacterias resistentes a cefalosporinas de tercera generación o carbapenemas (Taconelli, 2017; Taconelli, 2018.).

De hecho, en los últimos 15-20 años, el manejo terapéutico de las infecciones por *E. coli* se ha visto dificultado por el aumento de la frecuencia de resistencias a los antimicrobianos más utilizados en su tratamiento. A continuación, se resumen los aspectos más relevantes de los diferentes mecanismos de resistencia de *E. coli* a los principales grupos de antimicrobianos utilizados para las infecciones invasivas:  $\beta$ -lactámicos, aminoglucósidos y quinolonas.

## 2.1 Resistencia a $\beta$ -lactámicos

La hidrólisis enzimática causada por las  $\beta$ -lactamasas es el mecanismo de

resistencia más frecuente a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos en las bacterias gramnegativas. Las  $\beta$ -lactamasas son enzimas fijadoras de penicilinas que catalizan la hidrólisis del anillo  $\beta$ -lactámico separando el enlace amida, impidiendo al antibiótico inhibir la síntesis de la pared celular. El grado de resistencia que generan estas enzimas se correlaciona con su concentración, afinidad por los diferentes  $\beta$ -lactámicos y sus propiedades hidrolíticas (Murray 2007).

Se han propuesto diferentes esquemas de clasificación de las  $\beta$ -lactamasas. La clasificación molecular, también conocida como clasificación de Ambler, es la más utilizada. Esta clasificación divide a las  $\beta$ -lactamasas en enzimas de clase A, C y D, que necesitan un aminoácido de serina para llevar a cabo su actividad hidrolítica, y en enzimas de clase B, llamadas metalo-enzimas, que requieren un ion de zinc divalente para actuar (Ambler 1980). Otra clasificación es la funcional de Bush y Jacoby (Bush 2009), que agrupa las enzimas en función de los sustratos frente a los que son activas y de su inhibición. Clasifica las  $\beta$ -lactamasas en los grupos 1 (cefalosporinasas de clase C de Ambler, no inhibidas por inhibidores de  $\beta$ -lactamasas como el ácido clavulánico), 2 (grupo heterogéneo de enzimas pertenecientes a las clases A y D de Ambler, de amplio espectro de sustrato incluyendo penicilinas, cefalosporinas, oxacilina y carbapenemas, inhibidas por inhibidores clásicos de  $\beta$ -lactamasas) y 3 (corresponde a la clase B de Ambler).

#### $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE)

Las BLEE pertenecen sobre todo a la clase A de Ambler (algunas enzimas de clase D son también consideradas BLEE) y a los grupos 2be y 2d de Bush y Jacoby. Son enzimas de codificación principalmente plásmidica con capacidad para inactivar los antibióticos oxi-imino- $\beta$ -lactámicos (como cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima) y aztreonam (Bradford 2001) pero no las cefamicinas ni los carbapanems. Son inhibidas por inhibidores de  $\beta$ -lactamasas. Se conocen con el nombre de “espectro extendido” por hidrolizar un rango de  $\beta$ -lactámicos más amplio que las enzimas “de espectro ampliado” (TEM-1, TEM-2 y SHV-1). Las BLEE son producidas con mayor frecuencia por distintas especies de enterobacterias como *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Salmonella* spp. y *Enterobacter*



spp. (Paterson 1999). En general, la producción de BLEE es el mecanismo de resistencia a cefalosporinas más frecuente en *E. coli*, cuya prevalencia en aislados invasivo se sitúa entre el 11% y el 15% en España, entre 2015 y 2018 (ECDC 2019).

Con alguna frecuencia, los plásmidos que vehiculan las BLEE pueden incluir determinantes de resistencia para otros antibióticos, como ocurre frecuentemente con los aminoglucósidos, trimetoprim/sulfametoxazol y con genes que confieren bajo nivel de resistencia a quinolonas; además, es frecuente en aislados de *E. coli* que produce BLEE la coexistencia de mutaciones cromosómicas que confieren alto nivel de resistencia a quinolonas.

Se han descrito varios tipos de BLEE: TEM, SHV, CTX-M, OXA y otros (<http://www.lahey.org/Studies/>). Las BLEE tipo TEM, junto con las SHV, habían sido hasta hace dos décadas las encontradas con más frecuencia en todo el mundo (Jones 2009). Se originaron por mutaciones en la secuencia de las  $\beta$ -lactamasas TEM-1 y TEM-2, que confieren resistencia a ampicilina pero no a cefalosporinas de tercera generación (Jones 2009). TEM-1 se encuentra en más del 40% de los aislamientos de *E. coli* y producía más del 90% de los casos de resistencia a ampicilina en este microorganismo (Datta 1965, Jacoby 2003, Livermore 1995). Entre las BLEE tipo TEM que han tenido una importante diseminación podemos resaltar TEM-24 en cepas clonales de *Enterobacter aerogenes* y otras enterobacterias en Francia e Italia (Bertrand 2003, Perilli 2002) y también en España (Salso 2003, Cantón 2002); y TEM-52, encontrada en áreas dispersas del mundo (Qelle 2001). En nuestro grupo se han desarrollado diversos estudios sobre la epidemiología clínica y molecular de las infecciones causadas por *E. coli* productor de BLEE (Rodríguez-Baño 2004; Romero 2005; Velasco 2007; Rodríguez-Baño 2008; Díaz 2010).

Las BLEE tipo SHV proceden de mutaciones de la  $\beta$ -lactamasa SHV-1, que se codifica en el cromosoma de más del 90% de las cepas de *Klebsiella pneumoniae* (Babini 2000, Chaves 2001, Livermore 1995); además, esta enzima se puede encontrar en plásmidos en un bajo porcentaje de cepas de enterobacterias resistentes a ampicilina (Du bois 1995, Miranda 2004). La mayoría de las BLEE tipo SHV se han descrito en

aislamientos de *K. pneumoniae*, aunque también se han encontrado en *E. coli*, entre otras enterobacterias. Las BLEE tipo SHV fueron las primeras que se describieron en España (Baquero 1988) y las implicadas en los primeros brotes (Fernández- Rodríguez 1992). Durante años, tanto en la cuenca mediterránea como en países asiáticos a orillas del Pacífico, la BLEE más frecuente fue SHV-12 (Ben-Hamouda 2004, Laksai 2000, Neonakis 2003, Weill 2004, Chanawong 2001, Kim J. 2005, Lee SH. 2003, Mulvey MR. 2004). En España SHV-12 se ha descrito también en cepas de *E. coli* que producían infecciones en animales (Briñas 2003, Teshager 2000) y en nuestra áreas ha sido la segunda BLEE en frecuencia (Rodríguez- Baño, J Antimicrob Chemother 2008).

Las  $\beta$ -lactamasas tipo CTX-M constituyen un grupo de BLEE que, al contrario que las anteriores, hidrolizan más eficazmente cefotaxima (de ahí su denominación) que ceftazidima, aunque algunas variantes hidrolizan también ceftazidima con gran eficacia (Bonnet 2001, Stürenburg 2004). Se describieron en 1989 (Bauernfeind 1990). Estas enzimas proceden de enzimas de similar espectro presentes en el cromosoma de especies de *Kluyvera* (Bonnet R. 2004). Las  $\beta$ -lactamasas CTX-M se han diseminado muy rápidamente por todo el mundo entre una gran variedad de enterobacterias, y son desde los primeros años del siglo XXI, las BLEE más frecuentes. Pueden dividirse en 5 grupos: grupo CTX-M-1 (que incluye CTX-M-15, una de las BLEE más prevalente en el mundo), grupo CTX-M-2, grupo CTX-M-8, grupo CTX-M-9 (que incluye CTX-M-14, que ha sido la BLEE más frecuente en España durante la primera década del siglo XXI) y grupo CTX-M-25, cada uno de los cuales incluye varias enzimas específicas.

Las BLEE tipo OXA pertenecen a la clase D de Ambler, confieren resistencia a ampicilina y cefalosporina y se caracterizan por tener una alta actividad hidrolítica frente a oxacilina y cloxacilina. Se inhiben en grado variable por ácido clavulánico. Es un grupo heterogéneo con más similitudes fenotípicas que genotípicas entre sí. La mayoría de las BLEE tipo OXA derivan de OXA-10 y se han descrito fundamentalmente en *P. aeruginosa* (Bradford 2001). La primera OXA con espectro BLEE (OXA-11) fue descrita a partir de un aislado de *P. aeruginosa* procedente de una muestra de sangre de un paciente de Turquía (Hall LM, 1993). Se han identificado mayoritariamente en *P. aeruginosa* y en *A. baumannii*, y en menor cuantía en diferentes especies de enterobacterias (Naas, 2008).

Otros grupos de BLEE son los pertenecientes a las familias PER, VEB y GES, las cuales tienen un perfil hidrolítico semejante a otras BLEE de clase A y, al igual que las OXA, se han identificado principalmente en bacilos gramnegativas no fermentadores. Sin embargo, también se han descrito aislados de enterobacterias, como es el caso de la primera enzima tipo VEB por parte de un aislado de *E. coli* en el año 1996 (Poirel L, 1999), o el caso de la primera enzima tipo GES, la cual se describió a partir de un aislado de *K. pneumoniae* en Francia (88). En la actualidad se han descrito 7 variantes de enzimas tipo VEB y 16 de GES ([www.lahey.org/studies](http://www.lahey.org/studies)), las cuales han sido identificadas en países de distintos continentes como Argentina, Brasil, China, Corea, Japón, Francia, Grecia, Portugal y Sudáfrica (Naas T, 2008; Mendoza N, 2009; Piersigilli AL, 2009). Las principales especies implicadas en la diseminación de estas BLEE son *P. aeruginosa*, *E. coli* y *K. pneumoniae*. Otras BLEE descritas de manera esporádica (menor prevalencia) en diferentes países son SFO, TLA, BEL y BES (Naas T, 2008; Matsumoto Y, 1999; Silva J, 2000; Bonnet R, 2000; Poirel L, 2005).

#### $\beta$ -Lactamasas tipo AmpC

Las  $\beta$ -lactamasas de la clase molecular C de Ambler (grupo 1 de Bush) se caracterizan por hidrolizar cefalosporinas de primera y de segunda generación (incluidas las cefamicinas) y, en menor medida, las de tercera. Las de cuarta generación y carbapenemas se ven poco afectadas por su perfil de inhibición. Pero si existe una hiperproducción de la enzima, el espectro de hidrólisis se amplía y afecta tanto a cefalosporinas de tercera como de cuarta generación. Por otro lado, las carbapenemas se pueden ver afectadas en caso de que haya una variante de estas enzimas, las denominadas AmpC de espectro extendido (*extended spectrum AmpC  $\beta$ -lactamasas*, "ESAC") (Nordmann P, 2007).

Los genes que pueden codificar la producción de AmpC están presentes en el cromosoma de diversos gramnegativas, aunque pueden no expresarse, y en algunos de ellos su producción es inducible tras la exposición a determinados antimicrobianos. En *E. coli*, la producción de AmpC no es inducible. Estos genes también pueden localizarse en plásmidos (Philippon A, 2002). Desde el punto de vista epidemiológico, las AmpC

plasmidicas tienen mayor relevancia que las cromosómicas debido a su capacidad para transferirse y diseminarse horizontalmente en distintos clones bacterianos.

La prevalencia de infecciones por *E. coli* productor de enzimas tipo AmpC es, en general, mucho más baja que la de productores de BLEE.

### Carbapenemasas

Son enzimas que hidrolizan a las carbapenemas. Han adquirido una extraordinaria importancia en los últimos 10 años, debido a que los microorganismos que las producen son frecuentemente resistentes a la mayoría de antimicrobianos disponibles, y su diseminación mundial está causando graves problemas en el tratamiento de los pacientes que sufren infecciones por estos microorganismos.

Se agrupan en diferentes clases de Ambler. Las carbapenemasas de clase A hidrolizan todos los betalactámicos, aunque su capacidad de hidrólisis es menor para cefoxitina y temocilina, y se inhiben por el ácido borónico. Las carbapenemasas de clase B tienen un perfil hidrolítico que incluye todos los betalactámicos salvo el aztreonam, no se inhiben por el ácido clavulánico o tazobactam ni por borónico, pero sí por agentes quelantes como el EDTA, el ácido dipicolínico o fenantrolina (Marchiaro P, 2008; Laraki N, 1999). Las de clase D hidrolizan las penicilinas y las cefalosporinas de primera y segunda generación, pero no las de tercera y cuarta; la capacidad hidrolítica frente a las carbapenemas es de bajo grado.

Se han descrito aislados de *E. coli* productores de carbapenemasas en todo el mundo. En un estudio multinacional en el que participaron 455 hospitales de 36 países europeos durante los años 2013-2014, se detectaron aislados productores de enzimas de todas las clases, aunque los países con mayor prevalencia fueron los del Mediterráneo y los Balcanes (Grundmann H, 2017). En España también se han detectado aislados de *E. coli* productores de carbapenemasas de todas las clases, principalmente de OXA-48. Durante los años 2012 a 2014 se encontró que los tipos de carbapenemasas en *E. coli* productores de estas enzimas fueron: el 71,9% OXA-48, el 22,3% VIM-1, el 3,3%

KPC-2, el 1,7% NDM y el 0,8 IMP-22 (Ortega A, 2016). La distribución de determinadas carbapenemasas es variable en las diferentes áreas geográficas dependiendo de varios factores, pero especialmente de la diseminación de determinados clones exitosos.

Afortunadamente la prevalencia de aislados invasivos resistentes a carbapenemas es aún muy bajo en porcentaje, del 0.1% (ECDC 2019) en nuestro país, pero el riesgo de que esta situación empeore, aumento como ocurre en *K. pneumoniae* es evidente.

## 2.2 Resistencia a quinolonas

La resistencia a quinolonas se produce principalmente mediante la modificación de la diana por mutaciones en los genes de la girasa (*gyrA* y *gyrB*) y de la topoisomerasa IV (*parC*), lo que origina resistencia de alto nivel (Ruiz J, 2002; Vila J, 1994). Además, existen genes de resistencia mediados por plásmidos (*plasmid mediated quinolone resistance* o PMQR), que causan bajo nivel de resistencia y que fueron descritos por primera vez en el Departamento de Microbiología de esta Universidad (Martínez-Martínez 1998). Entre dichos genes se encuentran los genes *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qepA* y *aac(6′)-Ib-cr*, codificando este último una enzima que afecta no sólo a los aminoglucósidos, sino también al ciprofloxacina (Robicsek A, 2006). Otros mecanismos que contribuyen a la resistencia son la disminución de la permeabilidad por pérdida o modificación de las porinas y los sistemas de expulsión activa.

En España, la prevalencia de resistencia a ciprofloxacina en aislados invasivos de *E. coli* durante los años 2015 a 2018 ha sido de alrededor del 32% (ECDC 2019). En los aislados productores de BLEE es más frecuente; en dos estudios multicéntricos llevados a cabo en los años 2002 y 2006 en España se hallaron, entre los aislados productores de BLEE, tasas de resistencia a ciprofloxacina del 64% y 68,6%, respectivamente (Andreu A, 2008; Rodríguez Baño J, 2008). En 2006, la prevalencia de genes PMQR en *E. coli* productor de BLEE fue del 1,1% para genes *qnr* y del 12,7% para el gen *aac(6′)-Ib-cr* (Briales A, 2012).

## 2.3 Resistencia a aminoglucosidos

La resistencia a aminoglucósidos se produce sobre todo por la producción de las llamadas enzimas modificantes de aminoglucósidos (acetiltransferasas, nucleotidiltransferasas y fosfotransferasas). También se han descrito cambios en la diana ribosómica o por metilasas de tipo *arm* o *rmt* (Smith CA BE, 2002; Galimand M, 2003; Doi Y AY, 2007). Como se comentó anteriormente, no es rara la asociación de la resistencia a aminoglucósidos y la producción de BLEE en enterobacterias. Un mismo aislado bacteriano puede expresar diferentes mecanismos de resistencia a aminoglucósidos. En nuestro país, la frecuencia de resistencia a alguno de los aminoglucósidos en los aislados de *E. coli* productores de BLEE obtenidos en 2002 y 2006 fue del 40,7% (Fernández-Martínez 2018).

## 3. *Escherichia coli* ST131

### 3.1 Descubrimiento y relación con BLEE

*E. coli* tiene una importante diversidad clonal. Sin embargo, en los últimos decenios se ha apreciado la existencia de algunos grupos clonales mayoritarios. Así, mediante MSLT sea podido apreciar que entre el 40 y el 75% de los aislados ExPEC se agrupan en un número reducido de ST mayoritarios; la diversidad clonal es mayor en aislados sensibles a todos los antimicrobianos.

Hasta el año 2008 se pensaba que la diseminación de *E. coli* productor de BLEE había tenido lugar principalmente mediante la adquisición de los genes productores de estas enzimas por aislados de *E. coli* no relacionados (o escasamente) clonalmente. Ese año se describió la existencia de un complejo clonal productor de CTX-M-15, denominado ST131, tras comprobar que 36 de 41 aislados procedentes de 7 países pertenecientes a tres continentes presentaban características similares en cuanto a grupo filogenético, pulsotipo, resistencia antimicrobiana y virulencia. Aunque presentaban perfiles de restricción similares, los aislados de este grupo clonal se agruparon en varios *clusters* relacionados (Nicolas - Chanoine MH, 2008). Todos

pertenecían al serotipo O25b:H4, eran resistentes a cefalosporinas por la producción de CTX-M-15, así como a quinolonas, y poseían genes de virulencia que los clasificaba como ExPEC, entre los que destacaron *iha*, *fimH*, *sat*, *kpsM*, *fyuA*, *iutA*, *usp*, *traT*, *ompT* y *malX* (Nicolas-Chanoine MH, 2008; Johnson JR, 2009). Estos hallazgos se corroboraron en trabajos posteriores, en los que también se encontró que los genes *bla*<sub>CTX-M-15</sub> de muchos de estos aislados estaban vehiculizados en plásmidos del grupo de incompatibilidad IncFII, que además portaban otros determinantes de resistencia como *bla*<sub>OXA-1</sub>, *aac(6)-Ib-cr*, y *bla*<sub>TEM-1</sub> (Coque TM, 2008). Por tanto, el descubrimiento de este clon rompía dos paradigmas: el de que la diseminación de BLEE en *E. coli* era exclusivamente policlonal, y el de la relación inversa entre resistencia y virulencia.

Por tanto, el complejo clonal ST131 se descubrió a partir de aislados productores de una BLEE específica, CTX-M-15, y resistencia a quinolonas, lo que hizo que durante algunos años se identificara ST131 con la producción de BLEE y dicha resistencia. Posteriormente, el conocimiento sobre este complejo clonal se ha ampliado enormemente, y en la actualidad sabemos que incluye aislados productores y no productores de CTX-M-15, así como resistentes y sensibles a quinolonas.

La importancia de ST131 en la diseminación de BLEE y específicamente de CTX-M-15 se comprobó pronto en varios trabajos. En Canadá, en un estudio de bacteriemias por *E. coli* entre 2000 y 2007, se apreció un aumento de la prevalencia de producción de BLEE desde el 0,3% al 5%; CTX-M-15 se detectó por primera vez en el año 2002, y aumentó considerablemente desde 2005, de forma paralela al aumento de los aislados de *E. coli* ST131, que pasaron de ser el 24% en 2005 al 57% en 2007 (Pitout JDD, 2009). Algo similar ocurrió en Pensilvania (EEUU) (Sidjabat HE, 2009). En nuestro país, en estudios multicéntricos nacionales realizados en 2000 y 2004, no se detectaron aislados productores de CTX-M-15 (Hernandez JR, 2003; Diestra K, 2008). Sin embargo, en otro estudio realizado entre 2006 y 2008, se apreció que las enzimas más frecuentemente encontradas fueron: CTX-M-14 (57,1%), CTX-M-15 (21,9%) y SHV-12 (9,5%), y que todos los aislados productores de CTX-M-15 se englobaban en el clon ST131 (Blanco et al, 2009). En general, la diseminación de ST131 productor de BLEE es un fenómeno mundial, aunque heterogéneo en la frecuencia con que los aislados productores de BLEE

pertenecen a este complejo clonal, así como en la frecuencia con que ST131 produce CTX-M-15 y otras BLEE (Peirano G, 2010) (Johnson JR, 2012) (Cagnacci S, 2008) (Arpin C, 2009) (Woodford N, 2009) (Matsumura Y, 2015).—Adicionalmente, se fueron describiendo aislados de ST131 productores de carbapenemasas (Peirano G, 2011) (Walsh TR, 2011) (Stoesser N, 2016) (Morris D, 2012) (Piazza A, 2016) (Stoesser N, 2016) (Fernandez J, 2014).

### 3.2 *E. coli* ST131 y resistencia a quinolonas

Otra de las características ya mencionadas de los aislados ST131 inicialmente descubiertos fue la asociación con la resistencia a quinolonas. Se ha llegado a la conclusión de que el aumento de la resistencia a estos fármacos que ocurrió de forma simultánea en Norteamérica, Europa y Asia fue debido a la emergencia de un número reducido de clones, principalmente ST131. Así, este clon concentró el 34% de los aislados resistentes a quinolonas entre 2002 y 2004 en Canadá (Johnson JR, 2009); entre el 35% y el 61% durante los años 2003-2006 en Europa (Cagnacci S, 2008) (Smet A, 2010; Cerquetti M, 2010); el 33-66% en Japón (Uchida Y, 2010); y el 25% en Corea del Sur (Lee MY, 2010). En España, en el año 2009 suponían el 9% (Blanco JJE, 2011).

### 3.3 Una visión más amplia de *E. coli* ST131

La existencia de marcadores de resistencia como la producción de BLEE o resistencia a quinolonas hacía relativamente fácil estudiar la presencia del clon ST131 en colecciones bacterianas existentes. Esto hecho impidió durante algún tiempo el que se apreciara que la diseminación del clon era mucho más amplia, existiendo aislados de este complejo clonal que no producen BLEE y/o que son sensibles a quinolonas (Johnson JR, 2009; Blanco JJE, 2011, López-Cerero 2013). De hecho, en un estudio realizado en nuestra ciudad en 2010, solo el 6,8% de los aislados de *E. coli* ST131 (O25b/H4) eran productores de BLEE, y entre los que no eran productores de BLEE; el 72% eran sensibles a ciprofloxacino (López-Cerero 2013).

El subtipado de los aislados de *E. coli* ST131 mediante la secuenciación de *fimH*



ha llevado a la identificación de múltiples subclones con distintos perfiles de resistencia a antibióticos. Actualmente se han descrito 3 clados de *E. coli* ST131: El clado A, asociado con la presencia de *fimH41*, serotipo O16 y con resistencia a trimetoprim-sulfametoxazol; el clado B, asociado con *fimH22*; y C, con *fimH30* y resistencia a fluorquinolonas. El clado C provendría del B, y su aparición habría ocurrido en los años 70 del pasado siglo. A su vez, dentro del clado C se han descrito dos subclados, C1/H30R, y C2/H30Rx, asociado a la producción de CTX-M-15 (Mathers A, 2015; Banerjee R, 2014; Price LB, 2013, Banerjee R, 2013; Pitout 2017). Estos dos subclados habrían encontrado una ventaja evolutiva evidente con la incorporación de las quinolonas y las cefalosporinas al armamentario terapéutico y su uso masivo durante los años 80 y 90 del siglo XX.

Por tanto, la importancia de *E. coli* ST131 radica en que incorpora la virulencia característica de los ExPEC con la adquisición de determinantes de resistencia, junto con su probada capacidad de diseminación mundial.

### 3.3 Epidemiología clínica de *E. coli* ST131: reservorios

Los reservorios más importantes que se han identificado los aislados de este clon son:

#### Portadores sanos

En general, se considera que el principal reservorio de los aislados ExPEC (sobre todo los pertenecientes al filogrupo B) es el tracto digestivo de los humanos. Por lo tanto, se plantea la hipótesis de que este sea también el principal reservorio de ST131. Sin embargo, esto había sido poco estudiado hasta la realización de este trabajo, debido a la inexistencia de marcadores fenotípicos de ST131 que permita su selección sencilla y eficiente entre los muy diversos aislados de *E. coli* presentes en el intestino. Un estudio realizado en Francia detectó un 7% de voluntarios sanos portadores de ST131 no productor de CTX-M-15 BLEE, siendo más de la mitad de ellos resistentes a fluoroquinolonas (Leflon-Guibout V, 2008). En 2011, la prevalencia fue del 14% (Nicolas-

Chanoine 2013). La diferencia podría deberse a la heterogeneidad de grupos de edad evaluados. En Australia, un estudio realizado en 2010-2011 mostró que el 1% de niños sanos y el 4% de mujeres en edad reproductiva eran portadores intestinales de ST131 (Kudinha 2013).

Los estudios realizados en aislados productores de BLEE son abundantes. Los residentes en residencias geriátricas y centros sociosanitarios son reservorios bien conocidos de *E. coli* ST131 productores de BLEE (Broussier 2020, Overdeest 2016; Gonçalves 2016; Arvand 2013; Dhanji 2011). En hospitales, estos aislados también se han encontrado con frecuencia entre pacientes ingresados (revisado en Nicolas-Chanoine 2014).

#### Alimentos y animales

Este aspecto también se revisó hace algunos años (Nicolas-Chanoine 2014). En general, se ha encontrado *E. coli* ST131 en muestras de alimentos diversos y en aislados de origen animal. Por ejemplo, en Canadá se comunicó por primera vez la detección de un aislado de *E. coli* ST131 no productor de BLEE en una muestra de carne de pollo crudo con un perfil genético indistinguible de otro procedente de una muestra clínica (Vincent C, 2010). En un estudio español se encontró relación genética entre algunos aislados ST131 de origen humano y aviar, siendo estas últimas procedentes tanto del ámbito clínico veterinario como de la venta cárnica al por menor; estos aislados eran productores de CTX-M-9 y presentaban el mismo perfil de virulencia (Mora A, 2010). Sin embargo, la frecuencia de aislamiento en estos reservorios es demasiado baja para considerarlos como altamente relevantes desde el punto de vista epidemiológico. Así, en varios trabajos llevados a cabo en el hospital Virgen Macarena durante los años 2007-2010 no se encontraron aislados de *E. coli* ST131 en muestras procedentes de carne de pollo y pavo tanto cocinadas como destinadas a la venta al por menor (Egea P, 2011; Egea P, 2012). De hecho, en un trabajo en el que se incluyeron aislados de *E. coli* ST131 correspondientes al período 1967-2009 se encontró una asociación negativa entre los pulsotipos de aislados de humanos y los de comida de origen animal (Johnson JR, 2012).

En cuanto a animales de compañía, se ha planteado la posibilidad de que las mascotas tengan un papel en la epidemiología del clon ST131. El primer trabajo que informó de la presencia de un aislado del clon ST131 portador de un plásmido IncFII, hasta entonces relacionado con infecciones en humanos, correspondía a un perro con bacteriuria. Dicho plásmido contenía genes *bla*<sub>CTX-M-15</sub>, *OXA-1*, *TEM-1*, *aac* ( $\beta$ )-*Ib-cr* y *qnrB2*. Además, compartía características de virulencia con un aislado de origen humano (Pomba C, 2009). Un estudio realizado en Portugal y España mostró la presencia de ST131 en perros pero sin relación clonal con aislados humanos salvo en un caso (Pomba 2013).

### Ambiente

Aunque se ha aislado *E. coli* ST131 de aguas residuales (que, en general, podría reflejar su presencia en el material fecal de personas colonizadas) y de agua de ríos (Paulshus 2019, Amos 2014, Colomer-Lluch 2013), no parece que el agua sea un reservorio principal de estos microorganismos, independientemente de que puedan contribuir en su epidemiología. Lo mismo ocurre con las muestras de suelo.

### **3.4 Epidemiología clínica de *E. coli* ST131: transmisión**

En cuanto a los mecanismos de transmisión, no han sido estudiados de forma fehaciente. Dado que parece que el principal reservorio sería el humano, se supone que el principal mecanismo de transmisión sería el contacto entre personas, directo o indirecto a través de un vehículo, como puedan ser las manos de personal sanitario en los hospitales o la contaminación puntual de objetos compartidos, como puedan ser sanitarios en el domicilio o residencias, etc.

En general, la transmisión nosocomial de *E. coli* parece ser menor que para *Klebsiella pneumoniae*; esto se ha estudiado principalmente en aislados productores de BLEE, y en concreto para aislados de ST131 (Hilty 2012). En la comunidad, se ha demostrado la transmisión de aislados de *E. coli* ST131 entre convivientes (Madigan 2015; Liakopoulos A, 2015; Johnson JR, 2016) pero no se conocen la frecuencia y

factores favorecedores de esta transmisión.

### 3.5 Factores de riesgo para la infección por *E. coli* ST131

En un estudio retrospectivo realizado en Minnesota (EEUU) en una colección de aislados de *E. coli* procedentes de diversas muestras, se encontró que los pertenecientes al clon ST131 se asociaron a una mayor edad, residir en un centro de larga estancia, haber sufrido una infección urinaria en los 30 días previos y haber recibido recientemente cefalosporinas, macrólidos o quinolonas (Banerjee 2014). En ese estudio, el 11% eran resistentes a cefalosporinas, por lo que estas variables podrían asociarse a la producción de BLEE. En nuestra área se realizó un estudio prospectivo en el que se evaluaron los factores de riesgo para la infección por ST131 entre aislados productores y no productores de BLEE, en pacientes con infecciones diversas por *E. coli* (López-Cerero 2014). Entre los no productores de BLEE, los factores asociados a ST131 fueron el sexo femenino, la diabetes, el uso previo de amoxicilina/clavulánico o quinolonas y, en el límite de la significación, el estar encamado. Entre los no productores de BLEE se asociaron con ST131 el sexo masculino, la adquisición relacionada con los cuidados sanitarios y el uso previo de antibióticos. En cuanto a pacientes con bacteriemia, son escasos los estudios realizados (Chung 2012, Cho 2015, Peirano 2014, Wu 2014).

### 3.6 Relevancia clínica de *E. coli* ST131

En general, se ha descrito *E. coli* ST131 como causante de las infecciones típicas de ExPEC (Banerjee 2014). En cuanto a la frecuencia con que causa infecciones invasivas, de nuevo, en general se ha estudiado sobre todo en infecciones causadas por aislados productores de BLEE. Así, en un estudio multicéntrico español realizado en 2010-2011, el 9,2% de las bacteriemias comunitarias de origen urinario por *E. coli* fueron causadas por aislados productores de BLEE; de estas, el 54% eran ST131. En un estudio realizado en nuestra área, el 12,5% de los aislados de *E. coli* procedentes de muestras clínicas (89% orinas) pertenecían al clon ST131 (López-Cerero 2013).

Existe controversia sobre si ST131 presenta mayor capacidad de causar infección que otros aislados ExPEC, y si una vez producida la infección, su gravedad es mayor. En estudios de infección experimental en *Caenorhabditis elegans* y pez cebra no se encontró mayor virulencia de los aislados ST131 en comparación con otros (Lavigne 2012). Los resultados de estudios en modelos de ratón son discrepantes (revisado en Banerjee 2014). En cuanto a los estudios clínicos, de nuevo, la mayoría se han realizado en aislados productores de BLEE y carecen de información clínica detallada, lo que es muy importante puesto que las características del huésped pueden ser clave para favorecer las infecciones invasivas por *E. coli*. En un estudio que incluyó aislados de diversas muestras, no se encontraron diferencias en tasas de curación o mortalidad con las infecciones causadas por otros aislados de *E. coli*, pero sí se asoció con persistencia y recurrencia (Banerjee 2014). Ese estudio tiene importantes limitaciones dado que no se caracterizan los tipos de infección. En un estudio realizado por nuestro grupo, los aislados ST131 de diversas muestras causantes de infección no se asociaron con mayor frecuencia de bacteriemia, presentación como shock séptico o mortalidad (Lopez-Cerero 2014). Los estudios realizados en infecciones bacteriémicas son escasos (Chung 2012, Cho 2015, Peirano 2014, Wu 2014).

## JUSTIFICACIÓN

*E. coli* ST131 es un ejemplo de “clon exitoso”, que aúna una extraordinaria capacidad de diseminación con la resistencia a antimicrobianos en algunos de sus clados y con la capacidad de causar infección extraintestinal por poseer muchos de los típicos factores de virulencia de los aislados ExPEC. Sin embargo, diversos aspectos de su epidemiología y de su impacto clínico no son bien conocidos.

Son pocos los estudios que han abordado la prevalencia de colonización y transmisión, así como los factores de riesgo para la adquisición de ST131, en el ámbito comunitario y nosocomial de aislados no productores de BLEE. Esta información es importante para la toma de decisiones en medidas de control de la transmisión.

Por otra parte, son también escasos los trabajos en aislados no productores de BLEE acerca de los factores de riesgo para el desarrollo de infecciones invasivas así como su impacto pronóstico. Disponer de datos a este respecto sería importante para el diseño de medidas de control y para conocer si es necesario aplicar medidas terapéuticas específicas para estas infecciones.

## HIPÓTESIS

1. La prevalencia de colonización por *E. coli* ST131 es mayor en convivientes que en contactos hospitalarios de pacientes con infección por estos microorganismos.
2. Pueden identificarse factores de riesgo asociado a la colonización por *E. coli* ST131 en convenientes y contactos hospitalarios de pacientes con infección por estos microorganismos.
3. Se puede identificar factores de riesgo para la bacteriemia por *E. coli* ST131 no productor de BLEE.
4. Las bacteriemias por *E. coli* ST131 no productor de BLEE tiene similar pronóstico que aquellas bacteriemias causadas por aislados no ST131.

## OBJETIVOS

1. Describir la prevalencia de colonización intestinal por *E. coli* ST131 (productor y no productor de BLEE) en convivientes y contactos hospitalarios en pacientes con infección por este microorganismo.
2. Identificar los factores de riesgo asociado a la colonización intestinal por *E. coli* ST131 (productor y no productor de BLEE) en convenientes y contactos hospitalarios de pacientes con infección por estos microorganismos.
3. Identificar los factores de riesgo para la bacteriemia por *E. coli* ST131 no productor de BLEE.
4. Evaluar el impacto pronóstico de los aislados de *E. coli* ST131 no productor de BLEE causantes de la bacteriemia.

## RESULTADOS

Intestinal colonization due to *Escherichia coli* ST131: risk factors and prevalence.



## RESEARCH

## Open Access



# Intestinal colonization due to *Escherichia coli* ST131: risk factors and prevalence

Isabel Morales Barroso<sup>1,2,3\*</sup>, Lorena López-Cerero<sup>1,2</sup>, María Dolores Navarro<sup>1,2</sup>, Belén Gutiérrez-Gutiérrez<sup>1,2</sup>, Alvaro Pascual<sup>1,2</sup> and Jesús Rodríguez-Baño<sup>1,2</sup>

## Abstract

**Background:** *Escherichia coli* sequence type 131 (ST131) is a successful clonal group that has dramatically spread during the last decades and is considered an important driver for the rapid increase of quinolone resistance in *E. coli*.

**Methods:** Risk factors for rectal colonization by ST131 *Escherichia coli* (irrespective of ESBL production) were investigated in 64 household members (18 were colonized) and 54 hospital contacts (HC; 10 colonized) of 34 and 30 index patients with community and nosocomial infection due to these organisms, respectively, using multilevel analysis with a p limit of < 0.1.

**Result:** Colonization among household members was associated with the use of proton-pump inhibitors (PPI) by the household member (OR = 3.08; 95% CI: 0.88–10.8) and higher age of index patients (OR = 1.05; 95% CI: 1.01–1.10), and among HC, with being bed-ridden (OR = 21.1; 95% CI: 3.61–160.0) and having a urinary catheter (OR = 8.4; 95% CI: 0.87–76.9).

**Conclusion:** Use of PPI and variables associated with higher need of person-to-person contact are associated with increased risk of rectal colonization by ST131. These results should be considered for infection control purposes.

**Keywords:** *Escherichia coli*, ST131, Intestinal colonisation, Risk factors, Carriage, Prevalence colonization, Outcome

## Introduction

*Escherichia coli* is among the most frequent cause of bacterial infection in humans, particularly in the urinary and digestive tracts. Therefore, antimicrobial resistance in *E. coli* has important consequences for antibiotic use. *E. coli* sequence type 131 (ST131) is a successful clonal group that has dramatically spread during the last decades, and is considered an important driver for the rapid increase in antimicrobial resistance in *E. coli* to quinolones; also some lineages of this clone, such as H30Rx clade C2, have been linked to the dissemination of the extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBL) CTX-M-15 and CTX-M-14 [1–3]. Importantly, these isolates usually exhibit the virulence factors associated with extraintestinal pathogenic *E. coli* strains [1]. Therefore, ST131 is important because of its combination of successful spread, antibiotic resistance and virulence.

Most epidemiological studies on intestinal colonisation by ST131 has been performed on isolates producing ESBLs. However, most ST131 isolated from rectal [4] or clinical samples [5] do not produce ESBLs. Thus, investigating the epidemiology of ST131 is challenging because these isolates lack a specific susceptibility marker, so that molecular methods must be applied to a high number of *E. coli* isolates in order to identify those belonging to ST131 clonal group. This is complex for prospective studies. Therefore, our knowledge about risk factors for the acquisition of non-ESBL-producing ST131 is very limited but would be relevant from an infection control perspective. The objectives of this study were to investigate the risk factor for colonization among contacts of patients infected with ST131 *E. coli* irrespective of ESBL production, in the community and hospitals.

## Methods

The risk factors for colonisation with ST131 *E. coli* were studied using a case-control design in 34 community and 30 hospital clusters, conducted at Hospital Universitario Virgen Macarena, a tertiary hospital attending

\* Correspondence: imoralesjerez@hotmail.com

<sup>1</sup>Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas y Microbiología, Hospital Universitario Virgen Macarena, Seville, Spain

<sup>2</sup>Departamentos de Medicina y Microbiología, Universidad de Sevilla / CSIC/ Instituto de Biomedicina de Sevilla, Seville, Spain

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s). 2018 **Open Access** This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

550.000 population in Seville, Spain, from April 2012 to April 2013. The study design was previously reported [6]. Briefly, the clusters were identified from an “index patient” suffering an infection due to ST131 *E. coli* (detected by PCR for *O25b rfb4*, allele 3 of the *pabB* gene and for the B<sub>23</sub> phylogroup), and was formed by his/her contacts. Community index patients (*n* = 34) were attending the emergency department and had not been admitted to the hospital during the previous month, and nosocomial index patients (*n* = 30) were hospitalized for > 48 h when the sample was obtained. The household members of each index community index patients (*n* = 64; median per index patient, 2; range 1–4) formed the community clusters, and the patients admitted to the same or nearest rooms and attended by the same team of nurses as the nosocomial index patient (*n* = 54; median, 2; range, 1–6) formed the nosocomial clusters. Rectal colonisation by ST131 *E. coli* was studied in all participants by performing rectal swabs within one week of index case detection, and 1 and 3 months later.

The microbiological procedures were previously reported [4]; in summary, rectal swabs were inoculated to Brilliance UTI agar, MacConkey agar containing 4 mg/L cefotaxime and a blood agar plate; all distinct *E. coli* morphotypes were screened for O25b/pabB3/B23. ESBL production was studied in all third-generation cephalosporin-resistant isolates by the double-disk synergy test. Antibiotic susceptibility was studied by broth microdilution according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) recommendations [7].

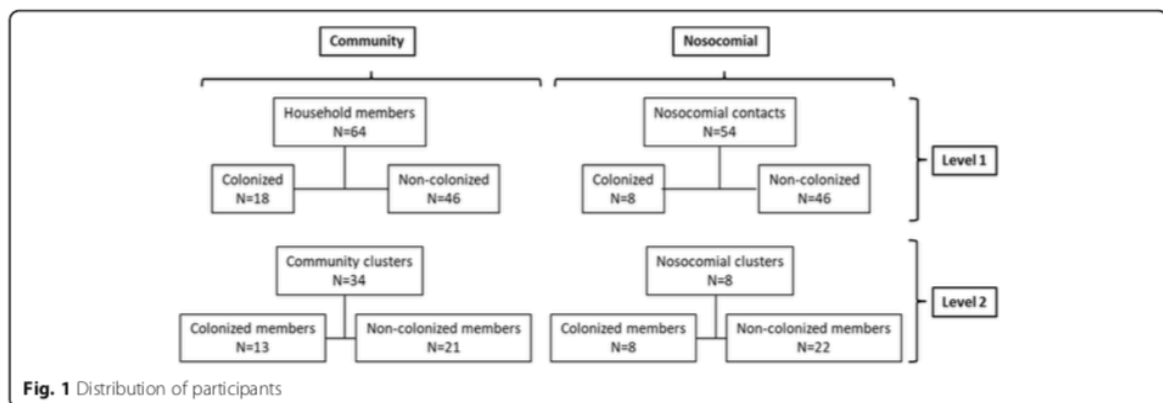
As previously reported, 18/64 (28.1%) household members from 13/34 (38.2%) community clusters and 8/54 (14.8%) contacts from 8/30 (26.6%) nosocomial clusters were colonized by ST131 *E. coli* in at least one of the 3 rectal swabs performed [4] (Fig. 1). Data were collected by personal interviews using a predesign questionnaire with the variables showed in Tables 1 and 2, before any information about colonization status was known. To consider

both the individual and cluster levels of exposure to risk factors for colonisation with ST131 *E. coli*, the variance among patients in the clusters were the risk factors for colonisation with ST131 *E. coli* in any of the 3 rectal swabs were investigated using a multilevel logistic regression analysis if the variance among patients in the clusters was significant (*P* value by Wald test ≤0.2); in that case, a two-level logistic regression analysis (level 1 was formed by the individual participants and level 2 by clusters) was performed. If *p* value by Wald test was > 0.2, a conditional logistic regression was performed for level 1. Variables were kept in the models if their *p* values were < 0.1. Mlwin 3.0 (University of Bristol, UK) and SPSS 21.0 (IBM Corp, Armonk, New York, USA) were used for the analyses. The Institutional Review Board of the Hospital Universitario Virgen Macarena approved the study.

**Results**

The distribution of participants according to colonization status and clusters is shown in Fig. 1. The univariate comparison in exposure to potential risk factors between the 18 colonized and 46 non-colonized participants from community clusters, and between community clusters with and without colonized member (13 and 21, respectively) are shown in Table 1. The variables with a *p* value < 0.2 for their association to colonization were higher age, being dependant for basic activities, not sharing bathroom with index case, recent antibiotic use and proton pump inhibitors (PPI) use in the individual level, and age of the index patient in the cluster level. The *p* value for the variance at the cluster level was 0.20; therefore, a multilevel analysis was performed; the variables associated with ST131 colonisation were PPI use in the individual level and age of the index patient in the cluster level (Table 1).

The univariate comparison in exposure to potential risk factors between the 10 colonized and 44 non-colonized participants from nosocomial clusters, and between nosocomial clusters with and without a colonized member (8



**Table 1** Characteristics of ST131 *E. coli* colonized and non-colonized household members of index community patients. Data are expressed as number of exposed patients (percentage) except where specified

Features of contacts (individual level)	ST 131 colonized household members (n = 18)	Non-ST131 colonized household members (n = 46)	P	Adjusted OR (multilevel)	p
Median age in years (IQR)	55 (47.25–74)	48 (37–58.5)	0.06		
Male gender	6 (33.3)	17 (37.0)	0.78		
Median Charlson index (IQR)	0 (0–0)	0 (0–0)	0.42		
Diabetes mellitus	2 (11.1)	3 (6.5)	0.61		
Cancer	0	3 (6.5)	0.55		
Recurrent urinary tract infections	1 (5.6)	0	0.28		
Dependent for basic activities	2 (11.1)	0	0.07		
Bed-ridden	1 (5.6)	0	0.28		
Recurrent urinary tract infections	1 (5.6)	0	0.22		
Urinary catheter	0	0			
Usual caregiver of index patient	11 (61.1)	21 (45.6)	0.26		
Contact with farm animals	1 (5.6)	1 (2.2)	0.48		
Shared bathroom with index patient	14 (77.8)	42 (91.3)	0.14		
Travel abroad in the previous 3 months	0	1 (2.2)	1		
Sexual partner of index patient	6 (33.3)	14 (30.4)	0.82		
Mean meal outside home > 3 days/week	3 (16.7)	6 (13.0)	0.70		
Cook regularly at home	9 (50)	22 (47.8)	0.87		
Eat chicken products ≥1 per week	11 (61.1)	28 (60.9)	0.98		
Eat turkey products ≥1 per week	5 (27.8)	17 (37.0)	0.48		
Eat raw vegetables ≥1 per week	17 (94.4)	39 (84.8)	0.29		
Recent antibiotic use	3 (16.7)	1 (2.2)	0.06		
Proton pump inhibitor use	9 (50.0)	12 (26.1)	0.06	3.08 (0.88–10.8)	0.07
Features of index patient (cluster level)	Clusters with one or more ST131 colonized household member (n = 13)	Clusters without any ST131 colonized household member (n = 21)	P		
Median age in years (IQR)	79 (69.75–83.75)	67.5 (51.5–81)	0.16	1.05 (1.01–1.10)	0.05
Male gender	8 (61.5)	8 (38)	0.43		
Bed-ridden	0	0	0.81		
Dependent for basic activities	2 (15.3)	2 (9.5)	0.65		
Urinary catheter	4 (30.7)	3 (14.28)	0.36		
Median Charlson index (IQR)	0.5 (0–2)	1.5 (0–2)	1		
Pets at home	7 (53.8)	11 (52.4)	0.96		
Recent antimicrobial use	9 (69.2)	13 (61.9)	0.84		

and 22, respectively) are shown in Table 2. The variables with a *p* value < 0.2 for their association to colonization in the individual level were age, being dependant for basic activities or bed-ridden and having a urinary catheter; no variable showed was selected in the cluster level. The *p* value for the variance at the cluster level was 0.95; therefore, multilevel analysis was not performed; the variables associated with colonisation in the multivariate conditional logistic regression were being dependent for activities and urinary catheter (Table 2).

The susceptibility of ST131 isolates is shown in Table 3. Overall, 6 isolates (21.4%) were ESBL-producers.

## Discussion

Despite the obvious limitation related to low numbers, we were able to identify some risk factors for rectal colonisation by ST131 in community and nosocomial clusters of patients with infection due to these organisms. PPI use and higher age in the index patients are associated with intestinal colonisation with ST131 among household members of patients with previous community-acquired infection due to this organism; this is interesting as PPI use has been found also to be a risk factor for colonisation with ESBL-producers [8] and other enteric pathogens. This might be related to the fact that PPI eliminate the

**Table 2** Characteristics of ST131 *E. coli* colonized and non-colonized hospital contacts of index nosocomial patients. Data are expressed as number of exposed patients (percentage) except where specified

Features of contacts (individual level)	ST 131 colonized hospital contacts (n = 10)	Non-ST131 colonized hospital contacts (n = 44)	P	Adjusted OR	p
Median age in years (IQR)	81.5 (75.5–87.75)	6.08 (59.75–80.0)	0.05		
Male gender	5 (50.0)	20 (45.4)	0.79		
Median Charlson index (IQR)	1 (0.25–5)	1 (0–3.75)	0.76		
Diabetes mellitus	3 (30.0)	15 (34.0)	0.80		
Cancer	3 (30.0)	13 (29.5)	0.98		
Liver cirrosis	0	1 (2.2)	1		
Recurrent urinary tract infections	1 (10.0)	1 (2.2)	0.34		
Dependent for basic activities	5 (50.0)	3 (6.8)	0.003	21.1 (3.61–160.0)	0.001
Bed-ridden	1 (10.0)	0	0.18		
Shared room with index patient	7 (70.0)	24 (54.5)	0.37		
Surgery during present admission	4 (40.0)	15 (34.0)	0.72		
Urinary catheter	6 (60.0)	12 (27.2)	0.19	8.4 (0.97–76.9)	0.05
Recent antimicrobial use	4 (40.0)	16 (36.3)	0.83		
Proton pump inhibitor use	6 (60.0)	34 (77.2)	0.85		
Median (IQR) days of hospital stay	5.5 (4.0–11.25)	6 (3.75–9)	0.70		
Features of index patient (cluster level)	Clusters with at least one ST131 colonized hospital contact (n = 8)	Clusters without any ST131 colonized hospital contact (n = 22)	P		
Median age in years (IQR)	62.50 (52.75–78)	67.10 (58.25–80.75)	0.70		
Male gender	5 (62.5)	6 (27.3)	0.28		
Median Charlson index (IQR)	2.60 (0–6)	2.40 (0–6)	0.7		
Bed-ridden	0	3 (13.6)	0.53		
Dependent for basic activities	2 (25)	4 (18.1)	0.73		
Admission to a surgical ward	4 (50)	8 (36.3)	0.66		
Admission to a medical ward	5 (62.5)	11 (50)	0.74		
Admission to an intensive care unit	1 (12.5)	0	0.21		
Surgery during present admission	4 (50)	5 (22.7)	0.39		
Urinary catheter	7 (87.5)	10 (45.4)	0.76		
Recent antimicrobial use	7 (87.5)	10 (45.4)	0.42		
Median (IQR) days of hospital stay	27.2 (7–46)	35.5 (14.75–24)	0.59		

**Table 3** Antimicrobial susceptibility of ST131 *Escherichia coli* isolates. Data are number of susceptible isolates (percentage)

Antimicrobial	All isolates (n = 28)	Isolates from household members (n = 18)	Isolates from hospital contacts (n = 10)
Ampicillin	6 (21.4)	6 (33.3)	0
Amoxicillin-clavulanic acid	9 (31.2)	9 (50)	0
Piperacillin-tazobactam	27 (96.4)	18 (100)	9 (90)
Ceftriaxone	22 (78.5)	15 (83.3)	7 (70)
Ceftazidime	22 (78.5)	15 (83.3)	7 (70)
Ertapenem	28 (100)	18 (100)	10 (100)
Ciprofloxacin	9 (32.1)	6 (33.3)	3 (30)
Gentamicin	24 (85.7)	17 (94.4)	7 (70)
Tobramycin	19 (67.8)	14 (77.8)	5 (50)
Amikacin	28 (100)	18 (100)	10 (100)
Fosfomycin	28 (100)	18 (100)	10 (100)

barrier that the acid content of the stomach pose to digestive tract colonisation of exogenous bacteria by ingestion. The higher age in index patients may be interpreted as higher need for care and therefore more frequent contact. In hospitals, the risk factors found (dependence for basic activities and urinary catheter) might also be associated with increased need for care and contact. These results suggest that direct contact would be a prominent mechanism of transmission for ST131 and build on the concept that avoiding such direct person-to-person transmission would be critical to reduce the spread of these isolates [9].

The information about risk factors for colonisation with ST131 is scant. While household transmission of ST131 isolates has been well demonstrated [6, 10], we could find no studies investigating the risk factors for transmission. In healthcare centers, Han et al. could not identify relevant differences between 29 and 8 long-term care facility (LTCF) residents colonized with ST131 and non-ST131 fluoroquinolone-resistant *E. coli*. [11]; in another study in a LTCF, Burgess et al. found that time of admission, being unable to sign consent, decubitus ulcer and fecal incontinence were risk factors for colonisation with ciprofloxacin-resistant ST131 *E. coli* [12]. Other studies only investigated ESBL-producing ST131 isolates [1, 2].

Previous antibiotic use was not identified as risk factor in those studies or in the present one; however, we found exposure to antibiotics (specifically amoxicillin-clavulanic acid and fluoroquinolones) to be associated with increased risk of infection due to ST131 [13]. While it may just be a problem of statistical power, antibiotics might be more important in the case of infections by selecting ST131 in the gut of already colonized persons than as a factor clearly favouring colonization.

This study has limitations that should be considered, including a limited statistical power to detect risk factors due to small sample size in relation with the difficulties in performing a study on colonization with bacteria for which no phenotypic marker exists; the sensitivity of detection of ST131 from rectal swabs might be lower than desired; and the results might be applicable only to clusters with an infected person and areas with a similar epidemiology and clades of ST131.

## Conclusion

In conclusion, use of PPI and variables associated with higher need of person-to-person contact are associated with increased risk of rectal colonization by ST131. These results should be considered for infection control purposes.

## Abbreviations

ESBL: extended-spectrum beta-lactamase; LTCF: long-term care facility; PPI: proton-pump inhibitors; ST131: *Escherichia coli* sequence type 131

## Acknowledgements

Funding: The authors receive funds for research from Plan Nacional de I+D+i 2013-2016, Instituto de Salud Carlos III, Subdirección General de Redes y Centros de Investigación Cooperativa, Ministerio de Economía, Industria y Competitividad, Spanish Network for Research in Infectious Diseases, - co-financed by European Development Regional Fund "A way to achieve Europe", Operative Programme Intelligent Growth 2014-2020 (REPI RD12/0015/0010; REPI RD16/0016/0001). This project was specifically funded by grants provided by Instituto de Salud Carlos III (grant 070190; grant AC16/000076-MODERN; and grant AC16/AC16/00072-ST131TS, within the JPI-EC-AMR framework) and Junta de Andalucía (grants CTS-5259 and CTS210). The funders had no role in the design, analysis or writing of the manuscript or the decision to publish.

## Funding

The authors receive funds for research from Plan Nacional de I+D+i 2013-2016, Instituto de Salud Carlos III, Subdirección General de Redes y Centros de Investigación Cooperativa, Ministerio de Economía, Industria y Competitividad, Spanish Network for Research in Infectious Diseases, - co-financed by European Development Regional Fund "A way to achieve Europe", Operative Programme Intelligent Growth 2014-2020 (REPI RD12/0015/0010; REPI RD16/0016/0001). This project was specifically funded by grants provided by Instituto de Salud Carlos III (grant 070190; grant AC16/000076-MODERN; and grant AC16/AC16/00072-ST131TS, within the JPI-EC-AMR framework) and Junta de Andalucía (grants CTS-5259 and CTS210).

## Availability of data and materials

The database and isolates are available upon request to authors; a contract with the author's institution is needed before having access to the data.

## Authors' contributions

IMB participated in recruitment of patients, collection and analysis of the data, contributed to the study design and drafted the manuscript. LL-C contributed to the microbiological studies, participated in the data analysis and review the manuscript for scientific content. MDN participated in recruitment of patients, collection of data and review the manuscript for scientific content. BG-G contribute to the study design and data analysis, and reviewed the manuscript for scientific content. AP contributed to the microbiological studies and study design, participated in the data analysis, reviewed the manuscript for scientific content and applied for funds. JR-B designed the study, contributed to the analysis, reviewed the manuscript for scientific content and applied for funds. All authors read and approved the final manuscript.

## Ethics approval and consent to participate

The study was approved by the local institutional review board (Comité Ético del Hospital Universitario Virgen Macarena) and written informed consent was obtained from all participants.

## Consent for publication

Not applicable.

## Competing interests

The authors declare that they have no competing of interests.

## Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

## Author details

<sup>1</sup>Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas y Microbiología, Hospital Universitario Virgen Macarena, Seville, Spain. <sup>2</sup>Departamentos de Medicina y Microbiología, Universidad de Sevilla / CSIC/ Instituto de Biomedicina de Sevilla, Seville, Spain. <sup>3</sup>Unidad Clínica de Urgencias, Hospital Universitario Virgen Macarena, Seville, Spain.

Received: 13 August 2018 Accepted: 30 October 2018

Published online: 15 November 2018

## References

1. Nicolas-Chanoine M-H, Bertrand X, Madec J-Y. *Escherichia coli* ST131, an intriguing clonal group. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27:543-74.

2. Banerjee R, Johnson JR. A new clone sweeps clean: the enigmatic emergence of *Escherichia coli* sequence type 131. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58:4997–5004.
3. Pitout JDD, DeVinney R. *Escherichia coli* ST131: a multidrug-resistant clone primed for global domination. *F1000Res*. 2017;6.
4. Leflon-Guibout V, Blanco J, Amaqdouf K, Mora A, Guize L, Nicolas-Chanoine MH. Absence of CTX-M enzymes but high prevalence of clones, including clone ST131, among fecal *Escherichia coli* isolates from healthy subjects living in the area of Paris, France. *J Clin Microbiol*. 2008;46:3900–5.
5. López-Cerero L, Bellido Mdel M, Serrano L, Liró J, Cisneros JM, Rodríguez-Baño J, Pascual A. *Escherichia coli* O25b:H4/ST131 are prevalent in Spain and are often not associated with ESBL or quinolone resistance. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2013;31:385–8.
6. Torres E, López-Cerero L, Morales I, Navarro MD, Rodríguez-Baño J, Pascual A. Prevalence and transmission dynamics of *Escherichia coli* ST131 among contacts of infected community and hospitalized patients. *Clin Microbiol Infect*. 2018;24:618–23.
7. Clinical and Laboratory Standard Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard. 8<sup>th</sup> ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009. CLSI document M07eA7.
8. Huizinga P, van den Bergh MK, van Rijen M, Willemsen I, Van 't Veer N, Kluytmans J. Proton Pump Inhibitor Use Is Associated With Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae Rectal Carriage at Hospital Admission: A Cross-Sectional Study. *Clin Infect Dis*. 2017;64:361–3.
9. Talaminos A, López-Cerero L, Calvillo J, Pascual A, Roa LM, Rodríguez-Baño J. Modelling the epidemiology of *Escherichia coli* ST131 and the impact of interventions on the community and healthcare centres. *Epidemiol Infect*. 2016;144:1974–82.
10. Johnson JR, Davis G, Clabots C, Johnston BD, Porter S, DebRoy C, et al. Household Clustering of *Escherichia coli* Sequence Type 131 Clinical and Fecal Isolates According to Whole Genome Sequence Analysis. *Open Forum Infect Dis*. 2016;3:ofw129.
11. Han JH, Garrigan C, Johnston B, Nachamkin I, Clabots C, Biker WB, et al. Epidemiology and characteristics of *Escherichia coli* sequence type 131 (ST131) from long-term care facility residents colonized intestinally with fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2017; 87:275–80.
12. Burgess MJ, Johnson JR, Porter SB, Johnston B, Clabots C, Lahr BD, et al. Long-Term Care Facilities Are Reservoirs for Antimicrobial-Resistant Sequence Type 131 *Escherichia coli*. *Open Forum Infect Dis*. 2015;2:ofv011.
13. López-Cerero L, Navarro MD, Bellido M, Martín-Peña A, Viñas L, Cisneros JM, et al. *Escherichia coli* belonging to the worldwide emerging epidemic clonal group O25b/ST131: risk factors and clinical implications. *J Antimicrob Chemother*. 2014;69:809–14.

Ready to submit your research? Choose BMC and benefit from:

- fast, convenient online submission
- thorough peer review by experienced researchers in your field
- rapid publication on acceptance
- support for research data, including large and complex data types
- gold Open Access which fosters wider collaboration and increased citations
- maximum visibility for your research: over 100M website views per year

At BMC, research is always in progress.

Learn more [biomedcentral.com/submissions](https://biomedcentral.com/submissions)



Bacteraemia due to non-ESBL-producing *Escherichia coli* O25b:H4 sequence type 131: insights into risk factors, clinical features and outcomes.



Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Antimicrobial Agents

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

Short Communication

## Bacteraemia due to non-ESBL-producing *Escherichia coli* O25b:H4 sequence type 131: insights into risk factors, clinical features and outcomes



Isabel Morales-Barroso <sup>a</sup>, Lorena López-Cerero <sup>a</sup>, José Molina <sup>a</sup>, Mar Bellido <sup>a</sup>,  
 María Dolores Navarro <sup>a</sup>, Lara Serrano <sup>a</sup>, Verónica González-Galán <sup>a</sup>, Julia Praena <sup>a</sup>,  
 Alvaro Pascual <sup>a,b</sup>, Jesús Rodríguez-Baño <sup>a,c,\*</sup>

<sup>a</sup> Unidad Clínica Intercentros de Enfermedades Infecciosas, Microbiología y Medicina Preventiva, Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío, Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBIS), Seville, Spain

<sup>b</sup> Departamento de Microbiología, Universidad de Sevilla, Seville, Spain

<sup>c</sup> Departamento de Medicina, Universidad de Sevilla, Seville, Spain

## ARTICLE INFO

Article history:  
 Received 25 July 2016  
 Accepted 17 December 2016

Keywords:  
*Escherichia coli*  
 ST131  
 Bloodstream infection  
 Risk factors  
 Mortality  
 Outcome

## ABSTRACT

The epidemiology and outcomes of bloodstream infections (BSIs) caused by *Escherichia coli* ST131 isolates not producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) are not well defined despite being more prevalent than ESBL-producers. In this study, risk factors and the impact on outcome of BSIs caused by non-ESBL-producing ST131 *E. coli* versus non-ST131 *E. coli* were investigated. A case-control study was performed in two tertiary centres to identify risk factors for ST131. Molecular methods were used to investigate all *E. coli* isolates from blood cultures for those belonging to O25b:H4-ST131 clonal group. *fimH* alleles were characterised in ST131 isolates. Multivariate analysis was performed by logistic regression or Cox regression as appropriate. A total of 33 ST131 *E. coli* cases and 56 controls were studied. ST131 isolates showed higher rates of resistance to ampicillin and ciprofloxacin; *fimH* alleles were H30 in 14 isolates (42.4%) and H22 in 12 isolates (36.4%). Only recent surgery (OR = 7.03, 95% CI 1.71–28.84;  $P=0.007$ ) and unknown source of bacteraemia (OR = 5.37, 95% CI 0.93–30.81;  $P=0.05$ ) were associated with ST131. ST131 isolates showed no association with 30-day mortality, therapeutic failure, presentation with severe sepsis/shock or length of stay. Bacteraemia due to non-ESBL-producing O25b:H4-ST131 *E. coli* showed few differences in terms of risk factors as well as similar outcome to non-ST131 *E. coli*. These data support the notion that ST131 strains are not less clinically virulent despite showing increased antimicrobial resistance, but also that they are not more virulent than other clonal groups causing BSI.

© 2017 Elsevier B.V. and International Society of Chemotherapy. All rights reserved.

## 1. Introduction

*Escherichia coli* sequence type 131 (ST131) has spread rapidly worldwide in recent decades and is considered an important driver of the increase in antimicrobial resistance in *E. coli* [1]. Because all *E. coli* ST131 harbour type 1 fimbrial adhesins encoded by *fimH*, the allelic diversity of this gene has been used for subtyping. The so-called H30 subclone is now predominant among ST131 isolates; its derivatives, H30-R and H30-Rx, are associated with fluoroquinolone resistance and the production of CTX-M-15 extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL), respectively [2,3]. However, the predominance

of H30-R and H30-Rx may be overestimated when only quinolone-resistant and/or ESBL-producing isolates are studied.

ST131 is important because it combines the ability for successful spread, antibiotic resistance and virulence; in fact, ST131 isolates usually exhibit the virulence factors associated with extraintestinal pathogenic *E. coli* (ExPEC) strains [1]. Clinical studies of ST131 isolates are challenging because molecular techniques are needed for their identification. As a consequence, previous studies investigating the risk factors and clinical impact of ST131 isolates causing bloodstream infections (BSIs) have mostly focused on ESBL-producers [4–7]. However, ESBL production may be an important confounder for risk factors and outcomes. To the best of our knowledge, data on non-ESBL-producing ST131 are limited to one retrospective study including only 20 patients [8].

The objectives of this study were to investigate the clinical features, risk factors and outcomes of BSI caused by ST131 *E. coli* not producing ESBLs.

\* Corresponding author. Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Virgen Macarena, Avda. Dr Fedriani 3, 41009 Seville, Spain. Fax: +35955926552.  
 E-mail address: [jesusrb@us.es](mailto:jesusrb@us.es) (J. Rodríguez-Baño).



## 2. Methods

### 2.1. Study design, sites and patients

A case–control study to investigate risk factors and a cohort study to investigate the outcome of BSI due to non-ESBL-producing *E. coli* O25b:H4-ST131 was conducted from January 2010 to October 2012 at Hospital Universitario Virgen Macarena and Hospital Universitario Virgen del Rocío, two tertiary hospitals serving a population of 1 100 000 in Seville, Spain. Adult patients with monomicrobial bacteraemia due to *E. coli* were eligible. Episodes caused by ESBL-producers were excluded but AmpC-producers were not as these are not so clearly linked to ST131. The case group was formed of all consecutive patients with bacteraemia due to O25b:H4-ST131 *E. coli*. The next two patients with bacteraemia due to non-O25b:H4-ST131 *E. coli* from the same centre were selected as controls.

Cases and control patients were prospectively recruited by daily review of blood cultures; all *E. coli* isolates were checked for belonging to O25b:H4-ST131 by real-time PCR (see below). For the outcome investigation, the cohort made up of all cases and controls was studied. All patients were followed for 30 days. The study was approved by the local Ethics Committee.

### 2.2. Variables and definitions

The following variables were collected: demographics; acquisition type (nosocomial, community or healthcare-associated); chronic underlying conditions and severity according to the Charlson comorbidity index [9] and McCabe classification [10]; antibiotic use (previous 2 months); invasive procedures (previous week; 1 month for surgery); and source of bacteraemia according to clinical and microbiological criteria. The main outcome variables were 30-day all-cause mortality and clinical failure at Day 14, defined as the persistence or worsening of signs or symptoms of infection. Secondary outcome variables were occurrence of severe sepsis or septic shock [11] in the first 24 h and length of stay after infection in survivors.

### 2.3. Microbiological studies

All isolates were screened by real-time PCR for the O25b:H4-ST131 clonal group using primers for O25b *rfb* and allele 3 of the *pabB* gene [12], and by multiplex PCR for phylogroup B2<sub>3</sub> typing using two different sets of primers [13]. All isolates showing cefotaxime or ceftazidime minimum inhibitory concentrations (MICs)  $\geq 1$  mg/L were screened for ESBL production and AmpC hyperproduction by the double-disk method (third-generation cephalosporin with and without clavulanic acid) on Mueller–Hinton agar and on cloxacillin (200 mg/L)-containing Mueller–Hinton agar. *fimH* allele types were determined using previously designed primers [14] and were designated using FimTyper 1.0 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/FimTyper-1.0/>). Antibiotic susceptibility was studied using commercial panels (MicroScan; Beckman, Brea, CA) and was interpreted according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) recommendations [15]. Isolates showing resistance to at least one drug from three or more families with intrinsic activity against Enterobacteriaceae were considered multidrug-resistant.

### 2.4. Statistical analysis

Univariate comparisons were performed using the  $\chi^2$  test or the Fisher's exact test and Mann–Whitney *U*-test as appropriate. Multivariate analyses were performed using logistic regression, except for mortality when Cox regression analysis was used. Variables with a *P*-value of  $\leq 0.2$  in the univariate analysis and interactions of interest were introduced and selected using a stepwise backward method. Adjusted hazard ratios and odds ratios (ORs) were

calculated with their 95% confidence interval (CI). Analyses were performed with the statistical software package SPSS v.15 (SPSS Inc., Chicago, IL).

## 3. Results

Non-ESBL-producing O25b:H4-ST131 *E. coli* were isolated from blood cultures of 33 patients during the study period; 56 control patients with non-O25b:H4-ST131 non-ESBL-producing *E. coli* were included (only 1 control could be found for 10 cases).

### 3.1. Antimicrobial susceptibility and *fimH* alleles

O25b:H4-ST131 *E. coli* showed higher rates of resistance to ampicillin and ciprofloxacin than non-ST131 isolates (29% vs. 38%, *P* = 0.04; and 16% vs. 14%, *P* = 0.02), respectively, and were more frequently multidrug-resistant (78.8% vs. 41%; *P* < 0.001). The *fimH* alleles of ST131 isolates were H30 in 14 isolates (42.4%), H22 in 12 isolates (36.4%), other variants in 6 isolates and 1 isolate lacked *fimH*. Compared with all other ST131 isolates, H30 isolates were more frequently resistant to ciprofloxacin [12/14 (85.7%) vs. 4/19 (21.1%); *P* < 0.001] and less frequently resistant to trimethoprim/sulfamethoxazole [2/14 (14.3%) vs. 11/19 (57.9%); *P* = 0.1]. Three ceftazidime-resistant ST131 isolates were shown to be AmpC-hyperproducers, and all were H22.

### 3.2. Risk factors for ST131: case–control study

The features of cases and controls are shown in Table 1. Variables included in the multivariate analysis were chronic pulmonary disease, recent surgery, unknown source of bacteraemia and urinary tract source. The final multivariate model showed that the two variables independently associated with ST131 were recent surgery (OR = 7.03, 95% CI 1.71–28.84; *P* = 0.007) and unknown source of bacteraemia (OR = 5.37, 95% CI 0.93–30.81; *P* = 0.05). Inclusion of previous antimicrobials did not change the results. The *P*-value of the Hosmer–Lemeshow goodness-of-fit test for the model was 0.95.

Compared with all other ST131 isolates, H30 isolates tended to be less frequently nosocomially acquired [3/14 (21.4%) vs. 10/19 (52.6%); *P* = 0.07] and to more frequently affect patients aged >65 years [12/14 (85.7%) vs. 10/19 (52.6%); *P* = 0.06 by Fisher's exact test]. No other differences in exposure to predisposing factors were shown.

### 3.3. Outcome analysis

No significant differences were found for mortality rates, presentation with severe sepsis or septic shock, clinical failure at Day 14 or median length of stay after infection in survivors between patients with ST131 and non-ST131 isolates (Table 1; Fig. 1). A stratified analysis according to fluoroquinolone susceptibility did not change the results (data not shown).

Univariate and multivariate analyses of factors associated with 30-day mortality and clinical failure at Day 14 are shown in Table 2. Non-fatal underlying disease and sources of bacteraemia other than the urinary and biliary tracts were associated with a higher risk of death and clinical failure. O25b:H4-ST131 *E. coli* was not shown to be associated with either of these two outcome variables.

The only variable associated with increased risk of presentation of severe sepsis or shock in the univariate analysis was strict community acquisition of the infection (OR = 2.67, 95% CI 1.03–6.87; *P* = 0.04). The results did not change after multivariate analysis. Again, O25b:H4-ST131 *E. coli* showed no associations (adjusted OR = 0.81, 95% CI 0.30–2.15; *P* = 0.67).

A comparison of H30 with other O25b:H4-ST131 isolates showed no differences for source [urinary tract, 6/14 (42.9%) vs. 6/19 (31.6%); *P* = 0.5], presentation with severe sepsis or shock [4/14 (28.6%) vs.

**Table 1**

Features of patients with bacteraemia due to O25b:H4-T131 *Escherichia coli* (cases) and non-O25b:H4-ST131 *E. coli* (controls) not producing extended-spectrum β-lactamases (ESBLs) <sup>a</sup>.

Characteristic	O25b:H4-ST131 (n = 33)	Non-O25b:H4-ST131 (n = 56)	OR (95% CI)	P-value <sup>b</sup>
Age (years) [median (IQR)]	70 (58.5–77.0)	71 (56.75–80)	–	0.98 <sup>c</sup>
Male sex	23 (69.7)	32 (57.1)	1.72 (0.69–4.29)	0.23
Acquisition type				
Community	10 (30.3)	19 (33.9)	0.84 (0.33–2.13)	0.72
Healthcare-associated	10 (30.3)	16 (28.6)	1.08 (0.42–2.78)	0.86
Nosocomial	13 (39.4)	21 (37.5)	1.08 (0.44–2.62)	0.85
Nursing home resident	1 (3.0)	2 (3.6)	0.84 (0.07–9.68)	1 <sup>d</sup>
Recent hospital admission (1 year)	8 (24.2)	11 (19.6)	1.3 (0.46–3.68)	0.6
Charlson comorbidity index [median (IQR)]	2 (0–3)	2 (0–3)	–	0.52 <sup>c</sup>
McCabe classification				
Non-fatal	22 (66.7)	31 (55.4)	1.61 (0.65–3.94)	0.29
Ultimately fatal	7 (21.2)	19 (33.9)	0.52 (0.19–1.42)	0.20
Rapidly fatal	4 (12.1)	6 (10.7)	1.14 (0.29–4.41)	1 <sup>d</sup>
Diabetes mellitus	11 (33.3)	21 (37.5)	0.83 (0.33–2.05)	0.69
Chronic pulmonary disease	2 (6.1)	10 (17.9)	0.29 (0.06–1.44)	0.19 <sup>d</sup>
Cancer	10 (30.3)	16 (28.6)	1.08 (0.42–2.78)	0.86
Liver cirrhosis	2 (6.1)	3 (5.4)	1.14 (0.18–7.20)	1 <sup>d</sup>
Chronic renal insufficiency	1 (3.0)	6 (10.7)	0.26 (0.03–2.26)	0.25 <sup>d</sup>
Neutropenia	3 (9.1)	3 (5.4)	1.76 (0.33–9.30)	0.66 <sup>d</sup>
Solid organ transplantation	0 (0)	3 (5.4)	–	0.29 <sup>d</sup>
Stem cell transplantation	0 (0)	2 (3.6)	–	0.52 <sup>d</sup>
Dependent for basic activities	5 (15.2)	11 (19.6)	0.73 (0.23–2.32)	0.59 <sup>d</sup>
Bedridden	1 (3.0)	3 (5.4)	0.55 (0.05–5.53)	1 <sup>d</sup>
Recurrent UTI	5 (15.2)	4 (7.1)	2.32 (0.57–9.34)	0.28 <sup>d</sup>
Recent surgery	9 (27.3)	3 (5.4)	6.62 (1.64–26.67)	0.008
Recent transrectal prostate biopsy	0	0	–	–
Mechanical ventilation	0	2 (3.6)	–	0.52 <sup>d</sup>
Urinary catheter	8 (24.2)	16 (28.6)	0.78 (0.29–2.09)	0.62 <sup>d</sup>
Endoscopy	3 (9.1)	6 (10.7)	0.83 (0.19–3.58)	1 <sup>d</sup>
Central venous catheter	2 (6.1)	8 (14.3)	0.38 (0.07–1.94)	0.31 <sup>d</sup>
Immunosuppressive drugs	1 (3.0)	6 (10.7)	0.26 (0.03–2.26)	0.25 <sup>d</sup>
Any recent antimicrobial use	15 (45.5)	22 (39.3)	1.28 (0.53–3.07)	0.56
Fluoroquinolones	7 (21.2)	8 (14.3)	1.61 (0.52–4.95)	0.39
Amoxicillin/clavulanic acid	10 (30.3)	14 (25.0)	1.3 (0.50–3.39)	0.58
Piperacillin/tazobactam	4 (12.1)	3 (5.4)	2.43 (0.51–11.64)	0.41 <sup>d</sup>
Carbapenems	2 (6.1)	2 (3.6)	1.74 (0.23–12.98)	0.62 <sup>d</sup>
Cephalosporins	2 (6.1)	1 (1.8)	3.54 (0.30–40.73)	0.55
Source of bacteraemia				
Unknown	5 (15.2)	2 (3.6)	4.82 (0.87–26.44)	0.09 <sup>d</sup>
UTI	12 (36.4)	29 (51.8)	0.53 (0.22–1.28)	0.15
Biliary tract	7 (21.2)	14 (25.0)	0.81 (0.28–2.27)	0.68
Other intra-abdominal infection	4 (12.1)	3 (5.4)	2.43 (0.51–12.5)	0.41 <sup>d</sup>
Respiratory tract	3 (9.1)	3 (5.4)	1.76 (0.33–9.30)	0.66 <sup>d</sup>
Skin and soft-tissue infection	2 (6.1)	3 (5.4)	0.55	1 <sup>d</sup>
Others	0	2 (3.6)	–	0.53 <sup>d</sup>
Pitt bacteraemia score [median (IQR)]	2 (2–3)	2 (2–3.75)	–	0.32 <sup>c</sup>
Active empirical therapy	28 (84.8)	46 (82.1)	1.21 (0.37–3.93)	0.74
Active definitive therapy <sup>e</sup>	26/29 (89.7)	47/51 (92.2)	0.73 (0.15–3.55)	0.70 <sup>d</sup>
Inflammatory response syndrome				
Sepsis	24 (72.7)	38 (67.9)	1.26 (0.48–3.26)	0.62
Severe sepsis	5 (15.2)	8 (14.3)	1.07 (0.31–3.59)	1 <sup>d</sup>
Septic shock	4 (12.1)	10 (17.9)	0.63 (0.18–2.21)	0.47
Mortality at Day 30	6 (18.2)	12 (21.4)	0.81 (0.27–2.42)	0.71
Clinical failure at Day 14	5 (15.2)	10 (17.9)	0.82 (0.25–2.65)	0.74
Duration of hospital stay after infection [median (IQR)] <sup>f</sup>	10 (5–16)	10 (6–17)	–	0.44 <sup>c</sup>

OR, odds ratio; CI, confidence interval; IQR, interquartile range; UTI, urinary tract infection.

<sup>a</sup> Data are expressed as number (%) of exposed patients except where specified.

<sup>b</sup> P-values were calculated by  $\chi^2$  test except where specified.

<sup>c</sup> Mann-Whitney U-test.

<sup>d</sup> Fisher's exact test.

<sup>e</sup> Only patients who survived until Day 3 were included (29 among ST131 and 51 among non-ST131).

<sup>f</sup> Only patients discharged alive were included.

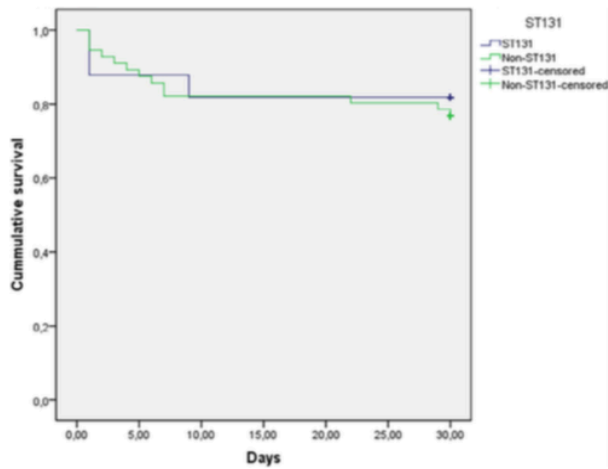
5/19 (26.3%);  $P = 1.0$ ), therapeutic failure [3/14 (21.4%) vs. 2/19 (10.5%);  $P = 0.6$ ] or mortality [3/14 (21.4%) vs. 3/19 (15.8%);  $P = 1.0$ ].

#### 4. Discussion

The main finding of this study was that we were unable to find many significant differences in risk factors or prognosis between bacteraemic infections caused by non-ESBL-producing

O25b:H4-ST131 and non-O25b:H4-ST131 *E. coli* isolates, even though O25b:H4-ST131 isolates were more frequently multidrug-resistant.

Previous surgery and an unknown source of bacteraemia were identified as the only predictors for O25b:H4-ST131. Previous surgery was also identified as a risk factor in a previous study including BSI caused by ESBL-producing *E. coli* [6]. Our interpretation is that surgery may be a surrogate marker integrating various exposures, including co-morbidities, nosocomial acquisition and exposure to



**Fig. 1.** Kaplan-Meier curves showing survival of patients with bacteraemia due to ST131 and non-ST131 *Escherichia coli* not producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs).

antibiotics. Unknown source of BSI among ST131 cases was also found in a population-based study in Canada that included fluoroquinolone-resistant bacteraemic strains only, in which ST131 was associated with primary sepsis (but also with upper urinary tract infection) [7].

Nevertheless, it is remarkable that there were no important differences in demographic features, type of acquisition, underlying conditions, other invasive procedures or previous antibiotic use. Similarly, no predictors for ST131 were found in the only study performed on BSI due to non-ESBL-producing *E. coli*, which included only community-onset episodes [8], and few predictors were identified in two previous studies in ESBL-producers [4,6]. This contrasts with previous studies investigating the risk factors associated with ST131 isolated in any sample (mostly urine), in which several risk factors were found including older age, long-term care facility, previous urinary tract infection, complex infection and previous exposure to antibiotics in a study in Minnesota, USA [16], and female sex, diabetes mellitus, bedridden status and previous exposure to antibiotics in Seville, Spain [17], and suggest that the ability to cause bacteraemia of ST131 strains is similar to that of other clonal groups of *E. coli*.

The second objective of this study was to investigate whether the outcomes of BSI due to ST131 are different from other *E. coli* clonal groups. We did not find O25b:H4-ST131 to be associated with different outcomes, which may be interpreted as not only that ST131 strains are not more clinically virulent than other strains, but also that they are not less virulent, even though they are more frequently multidrug-resistant. Early anecdotal reports of severe infections caused by ST131 isolates transmitted between households suggested high clinical virulence [18,19]. In previous studies on bacteraemic infections, ST131 isolates did not show an increase in mortality or incidence of shock [4–6,8], which is similar to the findings in the current study. ST131 strains were not associated with bacteraemia, shock or mortality in a study including all-source (mainly urine) *E. coli* isolates in Seville [17], but were independently associated with persistent or recurrent infections in the Minnesota study [16].

Interestingly, there was a lower proportion of ST131 isolates belonging to the H30 subclone in this study than in previous studies (mostly not performed in bacteraemic isolates), where H30 was the most frequent subclone overall [3]. In Minnesota, H30 was shown to be specifically associated with healthcare-associated infections, mostly among older patients in long-term care facilities [20], which is similar to the current findings.

This study has some limitations. First, statistical power was limited and some associations may therefore not have been detected. Second, virulence-associated genes and clonal groups in control patients were not investigated. Third, the data would apply to areas with a similar epidemiology of *E. coli* bacteraemic infection. Strengths include the fact that detection of O25b:H4-ST131 was performed prospectively. In addition, only non-ESBL-producing isolates were included to avoid the potential effects of confounding caused by ESBL production.

In conclusion, bacteraemia due to non-H30, O25b:H4-ST131 *E. coli* showed limited differences in terms of risk factors and no differences in terms of outcome in comparison with non-ST131 isolates among non-ESBL-producing isolates. These data support the notion that despite showing increased antimicrobial resistance, ST131 strains are not less clinically virulent, but also not more virulent than other clonal groups causing bacteraemia.

**Funding:** This study was funded by the Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Economía y Competitividad—co-financed by European Development Regional Fund ‘A way to achieve Europe’ ERDF, Spanish Network for Research in Infectious Diseases [REIPI RD12/0015 and RD16/0016], the Fondo de Investigación Sanitaria

**Table 2**  
Univariate and multivariate analyses of factors associated with 30-day mortality and clinical failure at Day 14.

Factor	30-day mortality				Clinical failure at Day 14				
	Crude HR (95% CI)	P-value	Adjusted HR (95% CI)	P-value	Crude OR (95% CI)	P-value	Adjusted OR (95% CI)	P-value	
Age	1.03 (0.99–1.06)	0.08	–	–	1.02 (0.99–1.07)	0.14	–	–	
Male sex	1.46 (0.59–3.60)	0.40	–	–	0.65 (0.21–2.01)	0.46	–	–	
Nosocomial acquisition	1.80 (0.64–4.99)	0.25	–	–	1.87 (0.54–6.44)	0.31	–	–	
Non-fatal underlying disease <sup>a</sup>	0.27 (0.10–0.72)	0.09	0.21 (0.07–0.60)	0.003	0.27 (0.08–0.87)	0.02	0.21 (0.07–0.60)	0.01	
Charlson comorbidity index	1.00 (0.83–1.21)	0.94	–	–	1.17 (0.89–1.56)	0.25	–	–	
Immunosuppression <sup>b</sup>	–	–	–	–	0.80 (0.15–4.0)	0.70	–	–	
Pitt bacteraemia score	1.08 (0.86–1.35)	0.49	–	–	1.11 (0.83–1.49)	0.47	–	–	
Active empirical therapy	0.88 (0.25–3.04)	0.84	–	–	0.85 (0.21–3.57)	0.82	–	–	
High-risk source <sup>c</sup>	2.28 (0.88–5.82)	0.08	3.94 (1.36–11.40)	0.01	2.85 (0.87–4.75)	0.08	4.80 (1.17–19.63)	0.02	
ST131 <i>E. coli</i> <sup>d</sup>	0.78 (0.29–2.06)	0.62	0.53 (0.18–1.57)	0.26	0.28 (0.25–2.65)	0.74	0.60 (0.15–2.33)	0.46	
Resistance to ampicillin	0.95 (0.57–1.58)	0.84	–	–	0.95 (0.57–1.58)	0.84	–	–	
Resistance to AMC	1.51 (0.87–2.63)	0.13	–	–	1.51 (0.87–2.63)	0.13	–	–	
Resistance to ciprofloxacin	1.11 (0.42–2.94)	0.82	–	–	1.11 (0.42–2.94)	0.82	–	–	

HR, hazard ratio; CI, confidence interval; OR, odds ratio; AMC, amoxicillin/clavulanic acid.

<sup>a</sup> According to McCabe classification.

<sup>b</sup> Includes neutropenia and use of immunosuppressive drugs.

<sup>c</sup> Includes sources other than the urinary and biliary tracts.

<sup>d</sup> ST131 *Escherichia coli* was forced into the multivariate models.

[grants 070190, 10/02021, 10/01955 and 10/00795] and the Junta de Andalucía [grants 0048/2008 and CTS-5259 and CTS210]. The funders had no role in the design, analysis or writing of the manuscript or the decision to publish.

**Competing interests:** JR-B has been a scientific advisor for AstraZeneca, Merck, Pfizer, Achaogen, InfectoPharm, Basilea and Vifor Pharma, and has been a speaker for AstraZeneca, Merck, Astellas and Pfizer. All other authors declare no competing interests.

**Ethical approval:** The Institutional Review Board of Hospital Universitario Virgen Macarena (Seville, Spain) approved the study.

## References

- [1] Nicolas-Chanoine MH, Bertrand X, Madec JY. *Escherichia coli* ST131, an intriguing clonal group. *Clin Microbiol Rev* 2014;27:543–74.
- [2] Johnson JR, Johnston B, Clabots C, Kuskowski MA, Castanheira M. *Escherichia coli* sequence type ST131 as the major cause of serious multidrug-resistant *E. coli* infections in the United States. *Clin Infect Dis* 2010;51:286–94.
- [3] Olesen B, Frimodt-Møller J, Fleron Leihof R, Struve C, Johnston B, Hansen DS, et al. Temporal trends in antimicrobial resistance and virulence-associated traits within the *Escherichia coli* sequence type 131 clonal group and its H30 and H30-Rx subclones, 1968 to 2012. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58:6886–95.
- [4] Chung HC, Lai CH, Lin JN, Huang CK, Liang SH, Chen WF, et al. Bacteremia caused by extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* sequence type ST131 and non-ST131 clones: comparison of demographic data, clinical features, and mortality. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:618–22.
- [5] Rodríguez-Baño J, Mingorance J, Fernández-Romero N, Serrano L, López-Cerero L, Pascual A, et al. Outcome of bacteraemia due to extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli*: impact of microbiological determinants. *J Infect* 2013;67:27–34.
- [6] Cho SY, Kang CI, Cha MK, Wi YM, Ha YE, Chung DR, et al. Clinical features and treatment outcomes of bloodstream infections caused by extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* sequence type 131. *Microb Drug Resist* 2015;21:463–9.
- [7] Peirano G, Pitout JD. Fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* sequence type 131 isolates causing bloodstream infections in a Canadian region with a centralised laboratory system: rapid emergence of the H30-Rx sublineage. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58:2699–703.
- [8] Wu YH, Cheng MF, Lai CH, Lin HH, Hung CH, Wang JL. The role of sequence type (ST) 131 in adult community-onset non-ESBL-producing *Escherichia coli* bacteraemia. *BMC Infect Dis* 2014;14:579.
- [9] Charlson ME, Pompei P, Ales KL, McKenzie CR. A new method of classifying prognostic co-morbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis* 1987;40:373–83.
- [10] McCabe WR, Jackson GG. Gram-negative bacteremia I. Etiology and ecology. *Arch Intern Med* 1962;110:845–55.
- [11] Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS international sepsis definition conference. *Crit Care Med* 2003;31:1250–6.
- [12] Doumith M, Day MJ, Hope R, Wain J, Woodford N. Improved multiplex PCR strategy for rapid assignment of the four major *Escherichia coli* phylogenetic groups. *J Clin Microbiol* 2012;50:3108–10.
- [13] 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;5:58–65.
- [14] Weissman SJ, Johnson JR, Tchesnokova V, Billig M, Dykhuizen D, Riddell K, et al. High-resolution two-locus clonal typing of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol* 2012;78:1353–60.
- [15] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-second informational supplement. Wayne, PA: CLSI; 2012 Document M100-S22.
- [16] Banerjee R, Johnston B, Lohse C, Porter SB, Clabots C, Johnson JR. *Escherichia coli* sequence type 131 is a dominant, antimicrobial-resistant clonal group associated with healthcare and elderly hosts. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2013;34:361–9.
- [17] López-Cerero L, Navarro MD, Bellido M, Martín-Peña A, Viñas L, Cisneros JM, et al. *Escherichia coli* belonging to the worldwide emerging epidemic clonal group O25b/ST131: risk factors and clinical implications. *J Antimicrob Chemother* 2014;69:809–14.
- [18] Ender PT, Gajanana D, Johnston B, Clabots C, Tamarkin FJ, Johnson JR. Transmission of an extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* (sequence type ST131) strain between a father and daughter resulting in septic shock and emphysematous pyelonephritis. *J Clin Microbiol* 2009;47:3780–2.
- [19] Owens RC, Johnson JR, Stogsdill P, Yarmus L, Lolans K, Quinn J. Community transmission in the United States of a CTX-M-15-producing sequence type ST131 *Escherichia coli* strain resulting in death. *J Clin Microbiol* 2011;49:3406–8.
- [20] Banerjee R, Johnston B, Lohse C, Chattopadhyay S, Tchesnokova V, Sokurenko EV, et al. The clonal distribution and diversity of extraintestinal *Escherichia coli* isolates vary according to patient characteristics. *Antimicrob Agents Chemother* 2013;57:5912–17.

## RESULTADOS

### Colonización intestinal por *Escherichia coli* ST131 en convivientes y contactos nosocomiales de pacientes con infección: prevalencia y factores de riesgo

#### Prevalencia de colonización por *E. coli* ST131 en contactos

Se incluyeron los contactos de 34 casos índice comunitarios (otros 4 no tenían convivientes) y sus 64 convivientes (mediana de convivientes por caso índice: 2; rango: 1 a 4), y 30 casos nosocomiales y sus 54 contactos nosocomiales (mediana de contactos, 2, rango 1 a 6). La prevalencia de colonización en convivientes y contactos se comunicó en un estudio asociado a esta tesis doctoral (Torres E, López-Cerero L, Morales I, Navarro MD, Rodríguez-Baño J, Pascual A. Prevalence and transmission dynamics of *Escherichia coli* ST131 among contacts of infected community and hospitalized patients. Clin Microbiol Infect. 2018; 24: 618-623).

Se detectó colonización por *E. coli* ST131 en cualquiera de las 3 muestras tomadas en 18/64 (28,1%) de los convivientes de casos índice comunitarios, lo que ocurrió en 13/34 (28,2%) de los conglomerados (*clusters*) domiciliarios (formados por cada caso índice comunitario y sus convivientes); y en 8/54 (14,8%) contactos de casos nosocomiales, lo que ocurrió en 8/30 (26,6%) conglomerados (*clusters*) nosocomiales (formados por cada caso índice y sus contactos).

#### Factores de riesgo para la colonización por *E. coli* ST131 en convivientes y contactos

El análisis de los factores de riesgo para la colonización por *E. coli* ST131 en los convivientes y contactos se realizó en dos niveles: el nivel individual o nivel 1 (variables de los convivientes o contactos), comparando la exposición a las variables estudiadas entre todos los convivientes o contactos colonizados y no colonizados; y el nivel *cluster* o nivel 2 (variables de los casos índice o del domicilio en el caso de éstos), comparando la exposición a las variables estudiadas entre los *clusters* con convivientes o contactos colonizados y aquellos sin convivientes o contactos colonizados.

En cuando a los contactos domiciliarios, la edad mediana de los contactos fue de 55 años en los colonizados y de 48 en los colonizados; eran hombres el 33,3 y el 37%, respectivamente, y tenían una mediana de índice de comorbilidad de Charlson de 0 en ambos grupos. El 61,1 y el 45,6% eran cuidadores de los casos índice. El análisis univariante de factores de riesgo en el nivel 1 (individuales) mostró las siguientes variables con un valor de  $p < 0.2$  para su asociación con la colonización: mayor edad, ser dependiente para las actividades básicas, no compartir cuarto de baño con el caso índice y haber recibido recientemente antibióticos o inhibidores de la bomba de protones.

En el nivel 2 (*clusters*), la edad mediana de los casos índice fue de 79 y 67 años en los clusters sin y con miembros colonizados, respectivamente, y eran hombres en el 61,5 y 38% de los casos; su mediana de índice de comorbilidad de Charlson era de 0,5 y 1,5, respectivamente. Solo la mayor edad del paciente índice mostró un valor de  $p < 0,2$  en la comparación entre los domicilios con y sin convivientes colonizados.

Dado que el valor de  $p$  para la varianza en el nivel 2 fue de 0,20, se realizó un análisis multivariante multinivel con un límite de significación de  $p = 0.10$ ; en éste, las variables asociadas con la colonización por ST131 en los convivientes fueron el uso de inhibidos de la bomba de protones en el nivel individual (OR ajustada: 3,08; intervalo de confianza [IC] al 95%: 0,88-10,80;  $p = 0,07$ ) y la edad del paciente índice en el nivel de *clusters* (OR ajustada: 1,05 por año; IC 95% 1,01-1,10;  $p = 0,05$ ).

En los casos nosocomiales, la edad mediana de los contactos colonizados y no colonizados fue de 81,5 y 60,8 años, respectivamente, y eran hombres el 50 y el 45,5%. La mediana del índice de comorbilidad de Charlson fue de 1 en ambos grupos, y su estancia media en el hospital fue de 5,5 y 6 días, respectivamente. El análisis univariante del nivel individual mostró las siguientes variables con un valor de  $p < 0.2$ : mayor edad, caso índice dependiente para actividades básicas, estar encamado y tener un catéter urinario.

En cuanto al nivel 2 (*clusters*), la edad mediana de los casos índice fue de 62,5 y 67 años, y eran hombres el 62,5 y el 27,3%, respectivamente. La mediana del índice de

comorbilidad de Charlson fue de 2,6 y 2,4 respectivamente. Ninguna variable de las estudiadas mostró un valor de  $p < 0,2$ .

El valor de  $p$  para la varianza a nivel de los *clusters* fue 0,95; por lo tanto, no se realizó un análisis multinivel. En el análisis multivariante realizado solo con las variables del nivel individual, las asociadas con la colonización en los contactos nosocomiales fueron el ser dependientes para las actividades básicas (OR ajustada: 21,1; IC 95%: 3,62-160,0;  $p=0,001$ ) y ser portador de catéter urinario (OR ajustada: 8,4; IC 95%: 0,97-76,9;  $p=0,05$ ).

En cuanto a la sensibilidad a los antibióticos de los aislados ST131, 6 aislamientos (21.4%) fueron productores de BLEE, 3 entre los aislados de contactos domiciliarios (16,6%) y 3 entre los contactos nosocomiales (30%). Los aislados de los convivientes domiciliarios mostraron mayores porcentajes de sensibilidad que los de los contactos nosocomiales a ampicilina (33,3% vs 0;  $p=0,06$ ) y amoxicilina/clavulánico (50% vs. 0;  $p=0,001$ ), siendo similares para piperacilina/tazobactam, cefalosporinas de tercera generación, carbapenemas, aminoglucósidos, fosfomicina y ciprofloxacina.

### **Bacteriemia por *Escherichia coli* ST131 no productor de BLEE: factores de riesgo e impacto pronóstico**

Se incluyeron 33 pacientes con bacteriemia por *E. coli* ST131 O25b:H4 no productores de BLEE durante el período de estudio (casos), y 56 pacientes con bacteriemia por *E. coli* no ST131 O25b:H4 no productores de BLEE (controles; para 10 de los casos no se encontraron controles).

En general, los aislados ST131 mostraron mayores porcentajes de resistencia que los no ST131 a ampicilina (29% vs. 38%,  $p=0,04$ ) y ciprofloxacina (48,5% vs. 25%,  $p=0,02$ ; existe una errata en el artículo original en estos datos). Además, los aislamientos ST131 fueron más frecuentemente multirresistentes (78,8% vs. 41%,  $p < 0,001$ ). Entre los aislados ST131, el tipo de alelo *fimH* fue H30 en 14, H22 en 12, otros tipos en 6, y un aislado no tenía *fimH*.

### Factores de riesgo para la bacteriemia por *E. coli* ST131

La edad mediana de los casos y los controles fue de 70 y 71 años, respectivamente, siendo el 69,7% y el 57,1% hombres. La adquisición de la bacteriemia fue nosocomial en el 39,4% y el 37,5%. La mediana del índice de comorbilidad fue de 2 tanto en los casos como en los controles. El origen de la bacteriemia fue urinario en el 36,5% de los casos y el 51,8% de los controles.

En el análisis univariante, no se encontraron diferencias en variables demográficas, tipo de adquisición, condiciones subyacentes o uso previo de antibióticos. Se incluyeron en el análisis multivariante las variables con un valor de  $p \geq 0,2$ , que fueron: enfermedad pulmonar crónica, cirugía en el último mes, origen de la bacteriemia desconocido y origen en aparato urinario. El modelo multivariado final mostró que las dos variables asociadas independientemente con ST131 fueron la cirugía reciente (OR ajustada: 7,03; IC 95%: 1,71-28,84;  $p=0,007$ ) y la bacteriemia de origen desconocido (OR ajustada: 5,37; IC 95%: 0,93-30,81;  $p=0,05$ ). Se realizaron modelos adicionales incluyendo el uso previo de antimicrobianos sin que los resultados cambiaran. El valor de  $p$  de la prueba de bondad de ajuste de Hosmer-Lemeshow para el modelo fue de 0,95.

Entre los episodios causados por ST131, aquellos causados por aislados H30 fueron algo menos frecuentemente nosocomiales que el resto (21% vs 52,6%,  $p=0,07$ ), y afectaron con cierta mayor frecuencia a pacientes de >65 años (85,7% vs 52,6%,  $p=0,06$ ).

### Análisis de gravedad clínica y pronóstico de las bacteriemias por *E. coli* ST131

Entre los casos y los controles, se presentaron con sepsis grave el 15,2% y el 14,3%, y con shock séptico el 12,1% y el 17,9%, respectivamente. La mortalidad en el día 30 fue del 18,2% en los casos y del 21,4% en los controles; la tasa de fracaso clínico en el día 14, de 15,2% y 17,9%, respectivamente; y la estancia mediana tras la infección, de



10 días en ambos grupos. Ninguna de estas diferencias fue estadísticamente significativa.

El análisis multivariante de factores asociados a la mortalidad en el día 30 mostró como factor protector la enfermedad de base no fatal (OR ajustada: 0,21; IC 95%: 0,07-0,60;  $p=0,003$ ) y como factor de riesgo el origen de la bacteriemia de alto riesgo, es decir, orígenes distintos al urinario y biliar (OR ajustada: 3,94; IC 95%: 1,36-11,40;  $p=0,01$ ). El que el aislado fuera ST131 no se asoció con la mortalidad (OR ajustada: 0,53; IC 95% 0,18-1,57;  $p=0,26$ ). El análisis de los factores asociados al fracaso clínico en el día 14 mostró las mismas variables asociadas, y tampoco demostró relación significativa con los aislados ST131 (OR ajustada: 0,60; IC 95%: 0,15-2,33;  $p=0,46$ ). Los aislados ST131 tampoco mostraron asociación con la presentación en forma de sepsis grave o shock séptico (OR ajustada: 0,81; CI 95%: 0,30-2,15;  $p=0,67$ ).

## DISCUSIÓN

### Prevalencia de colonización por *E. coli* ST131

Este estudio encontró que la colonización por ST131 es frecuente entre convivientes y contactos de pacientes con infección comunitaria o nosocomial por estos microorganismos, y que es mayor entre los convivientes que entre los contactos nosocomiales.

En un estudio realizado en París en 2006, el 2% de 332 voluntarios sanos presentaron colonización rectal por ST131 (Leflon-Guibot 2008). La prevalencia fue del 4% en otro estudio realizado en Australia entre 2009 y 2011 (Kudinha 2013). En estudios más recientemente publicados, se encontraron prevalencia del 13% en Minneapolis (EEUU) (Mohamed 2020), 3% en Taiwan (Wu, 2019). En un estudio en residentes de centros de larga estancia en EEUU se encontró una prevalencia del 24% (Burgess 2015). No hemos encontrado estudios que comparen la prevalencia de colonización por ST131 en convivientes y en contactos nosocomiales; Hilty et al compararon la colonización en estos grupos pero de aislados ST131 productores de BLEE, y también encontraron mayor prevalencia en convivientes (Hilty 2012).

En la publicación complementaria a este trabajo (Torres, 2018) se analizó la relación clonal de los aislados ST131; este análisis permitió establecer que en 9 de los 13 *clusters* domiciliarios con varios miembros colonizados por ST131, dos o más miembros compartían aislados clonalmente relacionados, mientras que esto solo ocurrió en 2 de los 8 *clusters* nosocomiales, lo que abunda en la mayor transmisión de ST131 en el ambiente domiciliario.

Estos resultados sugieren que la transmisión de ST131 es más frecuente en ámbitos domiciliarios y en residencias que en los hospitales, probablemente porque se requiera un contacto más estrecho y frecuente para la transmisión. No puede descartarse la adquisición en estos ámbitos de estos microorganismos desde fuentes exógenas comunes, aunque como hemos visto, y en el análisis posterior se abunda en

ello, los datos existentes sugieren que la transmisión ocurriría sobre todo de persona a persona, directa o indirectamente.

#### Factores de riesgo para la colonización por *E. coli* ST131

A pesar del limitado poder estadístico de nuestro estudio, relacionado con la complejidad de la identificación de los aislados ST131 en muestras de frotis rectal, en este trabajo se han identificado algunos factores de riesgo para la colonización rectal por ST131 en convivientes y contactos nosocomiales de pacientes con infección causada por estos microorganismos.

Por una parte, en los convivientes, el uso de inhibidores de la bomba de protones en éstos y una mayor edad de los casos índice se asociaron con mayor riesgo de colonización intestinal por ST131. La asociación con los inhibidores de bomba de protones es interesante, ya que se ha encontrado también que el uso de estos fármacos es un factor de riesgo para la colonización intestinal por productores de BLEE (Huizinga P, 2017) y podría estar relacionado con la eliminación de la barrera que el contenido de ácido clorhídrico del estómago representa para la colonización de bacterias exógenas. La mayor edad de los casos índice podría ser un marcador de mayor necesidad de cuidados y, por lo tanto, un contacto más frecuente. Estas variables nos hacen plantear las hipótesis de que la ingestión podría ser la vía principal por la que estos microorganismos alcanzan el intestino y, por otro lado, de que la transmisión de persona a persona podría ocurrir como paso previo.

Es difícil evaluar la posibilidad de evitar la transmisión en el ámbito familiar de esta u otras bacterias; esto parece inviable en el ámbito de personas que tienen un contacto frecuente y/o íntimo, como ocurre en las parejas; y fuera de las parejas, por más que se preconice la higiene de manos en los cuidados, evitar la transmisión en el caso de personas que precisan cuidados y ayuda para las tareas básicas parece muy difícil a medio plazo. En cualquier caso, extremar la higiene de manos en los cuidados es siempre una medida a contemplar en el cuidado de personas especialmente predispuestas a desarrollar infecciones invasivas por estas bacterias.

En los hospitales, los factores de riesgo encontrados lo fueron solo a nivel individual, siendo éstos la dependencia para actividades básicas y el portar un catéter urinario; ambas variables podrían ser también marcadores de una mayor necesidad de atención y contacto, y por tanto, de posibilidades de transmisión. En este caso, la transmisión sería cruzada, probablemente a través de las manos de sanitarios o de objetivos o superficies contaminadas. En el caso de la transmisión nosocomial, la higiene de manos sería, también aquí, un factor importante para evitar la transmisión.

Los resultados en las dos poblaciones sugieren la importancia del contacto persona a persona, directo o indirecto, como mecanismo de transmisión principal para ST131. De hecho, en un modelo matemático previo desarrollado en nuestro centro, se predecía que evitar dicha transmisión directa de persona a persona sería fundamental para reducir la propagación de estos microorganismos (Talaminos A, 2016).

La información previa a este estudio sobre los factores de riesgo para la colonización con ST131 era muy escasa. Si bien la transmisión doméstica de aislamientos de ST131 había sido bien demostrada (Johnson JR, 2016), no encontramos estudios que en ese momento hubieran investigado los factores de riesgo para la colonización en convivientes o contactos hospitalarios. En un estudio realizado en centros de larga estancia, Han y cols. no pudieron identificar diferencias relevantes entre 29 residentes colonizados por *E. coli* ST131 resistente a las fluoroquinolonas y otros 8 colonizados por *E. coli* no ST131 también resistentes a quinolonas (Han JH, 2017). En otro estudio realizado también en centros de larga estancia, Burgess y cols encontraron que el tiempo de ingreso, el no poder firmar el consentimiento, la presencia de úlcera de decúbito y la incontinencia fecal eran factores de riesgo para la colonización por *E. coli* ST131 resistente a ciprofloxacino (Burgess MJ, 2015). Otros estudios solo estudiaron aislamientos de ST131 productores de BLEE (Nicolas-Chanoine MH, 2014; Banerjee R; 2014).

El uso previo de antibióticos no se identificó como factor de riesgo en esos estudios ni en el presente; sin embargo, en un estudio previo realizado en nuestro centro sí encontramos que la exposición a antibióticos (específicamente

amoxicilina/ácido clavulánico y fluoroquinolonas) estaba asociada con un mayor riesgo de infección por ST131 (Lopez-Cerero L, 2014); en ese estudio, la mayoría fueron infecciones urinarias. Si bien puede ser solo un problema de poder estadístico, planteamos la hipótesis de que los antibióticos sean más relevantes como factor de riesgo para la infección al seleccionar aislados ST131 en el intestino de personas ya colonizadas, que como un factor que favorezca la colonización, que podría producirse independientemente de la exposición a antibióticos. De todas formas, son necesarios estudios con mayor número de pacientes en este sentido.

Este estudio tiene limitaciones que deben considerarse para su interpretación, además de un poder estadístico limitado para detectar factores de riesgo por el relativamente pequeño tamaño muestral. La sensibilidad de la detección de ST131 en hisopos rectales puede ser inferior a la deseada; podríamos no haber incluido variables de riesgo relevantes, como la contaminación de superficies; en este análisis no hemos diferenciado los aislados ST131 por alelos *fimH*; finalmente, los resultados podrían no ser aplicables a áreas con epidemiología y clones circulantes distintos a los nuestros. Algunas fortalezas del trabajo son la inclusión de numerosas variables en base a la experiencia acumulada en estudios similares, la inclusión de pacientes en tiempo real, lo que permitió una recogida de datos mucho más fiable y la realización de un análisis multinivel cuando fue necesario.

En la actualidad nuestro grupo está realizando un estudio de colonización más amplio en familias y residentes en geriátricos, así como estudios en aguas residuales de nuestra ciudad que esperamos proporcionen información complementaria de interés.

#### Factores de riesgo para la bacteriemia por *E. coli* ST131

El principal hallazgo en nuestro estudio es que no pudimos encontrar tantas diferencias como habíamos esperado entre pacientes con bacteriemia por *E. coli* ST131 y no ST131, no productores de BLEE, a pesar de que los aislados ST131 fueron más frecuentemente resistentes a algunos antimicrobianos (pero no a otros). De hecho, los

únicos factores de riesgo para ST131 encontrados fueron la cirugía en el mes previo y el origen desconocido de la bacteriemia.

Curiosamente, la cirugía anterior también se identificó como factor de riesgo en un estudio anterior que estudió bacteriemias *E. coli* ST131 productores de BLEE (Cho SY, 2015). La cirugía es probablemente una variable que probablemente integra varias exposiciones, como son el uso previo de antibióticos (en profilaxis), mayor comorbilidad y contacto con la atención sanitaria, además del proceso invasivo en sí mismo. El origen desconocido de la bacteriemia como factor asociado a ST131 también se encontró en un estudio poblacional realizado en Canadá, que incluyó solo aislados bacteriémicos de *E. coli* resistentes a las fluorquinolonas (Peirano G, 2014). Estos datos no son suficientes para sugerir que ST131 son específicamente más capaces de causar bacteriemia a través de la translocación intestinal, pero este aspecto merecería estudios adicionales en los que pudiera controlarse mejor los factores predisponentes de los pacientes para este tipo de bacteriemias.

Parece importante señalar que no se pudieron encontrar diferencias importantes en las características demográficas, el tipo de adquisición, las condiciones subyacentes, otros procedimientos invasivos o el uso previo de antibióticos. De manera similar, no se encontraron predictores para ST131 en el único estudio realizado con anterioridad en bacteriemias por *E. coli* ST131 no productores de BLEE; en ese estudio solo se incluyeron episodios de presentación comunitaria (Wu YH, 2014). En dos estudios previos que evaluaron los factores de riesgo para la bacteriemia por *E. coli* ST131 productores de BLEE, se identificaron también pocos predictores: la bacteriemia secundaria pero no relacionada con catéter urinario y la cirrosis hepática (ésta como factor protector) en un estudio realizado en Taiwán (Chung HC, 2012), y la cirugía en un estudio realizado en Corea del Sur, como se indicó anteriormente (Cho SY, 2015). Esto significaría que la bacteriemia por ST131 puede ocurrir en cualquier paciente con riesgo de bacteriemia por *E. coli*, y que ST131 no tendría una capacidad especial de causar bacteriemia en pacientes menos predispuestos. De todas formas, son necesarios más estudios, con un número mayor de casos y que controle adecuadamente los factores

predisponentes de desarrollar bacteriemia por *E. coli*, para poder asegurar esto con mayor seguridad.

Los datos en bacteriemia contrastan con otros estudios previos que incluyeron aislamientos de *E. coli* de diversos tipos de muestra, en su mayoría aislados de la orina, en los cuales sí se encontraron más factores de riesgo, incluidos la mayor edad, ingreso en centros de larga estancia, infecciones urinarias previas y la exposición reciente a antibióticos en un estudio realizado en Minnesota (Banerjee R, 2013); y el sexo femenino, la diabetes mellitus, encamamiento y la exposición previa a antibióticos en un estudio desarrollado en Sevilla (López-Cerero L, 2014). Los resultados de ambos estudios sugieren que los pacientes con infección urinaria por aislados ST131 estarían más predispuestos a la infección urinaria de por sí y por tanto tampoco sugieren una especial o mayor virulencia de estos aislados.

El hecho de que el uso reciente de antibióticos no fuera un factor de riesgo en nuestro estudio es importante porque los aislados ST131 eran con más frecuencia multirresistentes; por lo tanto, se podría haber esperado que el uso de antibióticos que puedan seleccionar aislamientos resistentes fuera un factor de riesgo. De hecho, el uso previo de algunos antibióticos fue un factor de riesgo en los estudios ya mencionados que incluyeron sobre todo infecciones urinarias no bacteriémicas (Banerjee R, 2013; López-Cerero L, 2014). De nuevo esto no parece ocurrir en los estudios realizados en bacteriemias (Chung HC, 2012; Cho SY, 2015; Wu YH, 2014). Esto podría indicar que en las infecciones urinarias no bacteriémicas, el uso de antibióticos sería capaz de seleccionar en el intestino de los pacientes los aislados de ST131 que van a causar las cistitis y otras formas de infección urinaria leve, mientras que esto no ocurre en las bacteriemias de forma tan relevante. Esto podría tener que ver con la diversidad de orígenes de las bacteriemias. Sin embargo, es llamativo que la resistencia a las fluorquinolonas fue menos frecuente en nuestro estudio (48,5%) y en el de Wu et al (36%), que también incluyó ST131 no productores de BLEE (Wu YH, 2014) en comparación con los estudios que incluyeron principalmente aislamientos urinarios, que fue del 70,9% en el estudio de Sevilla (López-Cerero L, 2014) y del 89% en el de Minnesota (Banerjee R, 2013). Además, la frecuencia de exposición previa a

cefalosporinas y fluorquinolonas también fue menor en los pacientes de los estudios que evaluaron bacteriemias en comparación con los que evaluaron sobre todo infecciones urinarias no bacteriémicas. Esta menor exposición y la menor resistencia de los aislados bacteriémicos a antimicrobianos de amplio espectro podría explicar que el uso previo de antibióticos no fuera un factor de riesgo clave para los mismos.

#### Gravedad clínica y pronóstico de las bacteriemias por *E. coli* ST131

En nuestro trabajo, no encontramos que *E. coli* ST131 se asociara con mayor probabilidad de causar sepsis grave (que prácticamente equivaldría a sepsis, definida como respuesta disregulada a la infección con los criterios actuales) o shock séptico, mortalidad, fracaso clínico o mayor estancia hospitalaria, ni en los análisis crudos ni en los ajustados.

Esto puede interpretarse como que los aislados ST131 no tienen mayor capacidad de causar cuadros graves (lo que podemos denominar “virulencia clínica”, en contraposición al concepto de virulencia clásico en *E. coli* como simplemente capacidad de causar infección extraintestinal) que otros aislados de *E. coli* cuando causa bacteriemia. Esto iría en contra de lo que sugerían algunos trabajos iniciales en los que se describieron casos anecdóticos de infecciones graves causadas por aislamientos de ST131 transmitidos en el ámbito domiciliario, y que se interpretaron como que ST131 podría ser más tendente a causar infecciones graves que otros secuenciotipos (Ender PT, 2009; Owens RC, 2011).

Sin embargo, los estudios en modelos animales no han soportado la hipótesis de que ST131 es más letal que otros secuenciotipos de *E. coli*. Así, aislados de ST131 causaron una mortalidad más baja que otras cepas B2 en estudios en *Caenorhabditis elegans* (Lavigne JP, 2012) y también más baja que ST67 y ST172 en *Galleria mellonella* (Alghoribi MF, 2014); los resultados de dos estudios con pez cebra fueron contradictorios (Lavigne JP, 2012; Hussain A, 2014). La letalidad y la enfermedad clínica no fueron más frecuentes con las cepas ST131 en un modelo de sepsis subcutánea de ratón (Johnson JR, 2012).



En cuanto a las infecciones bacteriémicas, y de forma parecida a lo encontrado en nuestro trabajo, los aislamientos de ST131 no mostraron un aumento de la mortalidad o de shock en los escasos estudios realizados previamente, aunque varios de ellos incluyeron o bien solo aislados productores de BLEE o bajo número de casos (Chung HC, 2012; Rodríguez-Baño J, 2013; Cho SY, 2015; Wu YH, 2014). Para otros tipos de infecciones, tampoco se encontraron diferencias en el pronóstico en niños menores de 1 año hospitalizados por infección urinaria (Cheng MF, 2015). Las cepas ST131 no se asociaron tampoco con mayor tasa de bacteriemia, shock o mortalidad en un estudio que incluyó aislamientos de *E. coli* de diversas muestras (principalmente orina) en Sevilla (López-Cerero L, 2014), aunque sí se asociaron de forma independiente con infecciones persistentes o recurrentes en el estudio de Minnesota (Banerjee R, 2013). Otro estudio en cistitis concluyó que la infección por cepas ST131 era un factor predictivo independiente de fracaso del tratamiento (Can F, 2015). Si esto está relacionado con la producción de biopelícula, lo que es frecuente entre los aislamientos de ST131 (Kundinha T, 2013) y/o una mayor capacidad para ocasionar infección intracelular temprana (Totsika M, 2013) merece una investigación adicional. Sin embargo, el impacto del tratamiento inadecuado de las infecciones causadas por los aislamientos de ST131, que probablemente sea alto en relación con su perfil de resistencia, puede no haberse controlado adecuadamente en estos estudios.

En resumen, con la información clínica disponible, aún escasa, podríamos decir que no hay evidencia de que los aislados ST131 sean más capaces de causar infección invasiva que otros secuenciotipos, y que cuando la producen, tampoco parece que causen mayor frecuencia de shock. Sin embargo, en las infecciones urinarias no bacteriémicas podrían asociarse a mayor tasa de recidivas y fracaso del tratamiento. Sería importante, para estudios futuros, intentar controlar adecuadamente la importancia de las características del huésped en unas y otras infecciones, lo que no es fácil, así como el impacto del tratamiento antimicrobiano.

La otra interpretación de estos resultados es que ST131 no presentaría menor virulencia clínica pese a ser más resistente a antimicrobianos que otros secuenciotipos.

Esto es relevante porque, como se expuso anteriormente, el paradigma anterior estaba basado en la existencia de una relación inversa entre resistencia y virulencia en *E. coli*.

El estudio de bacteriemias tiene también algunas limitaciones. Primero, el poder estadístico del mismo es limitado y, por lo tanto, algunas asociaciones pueden no haber sido detectadas. Sin embargo, no se pudo apreciar tendencia alguna en uno u otro sentido en lo referente al pronóstico. En segundo lugar, no se investigaron los subclones ST131, los genes asociados a la virulencia y los grupos clonales en los pacientes de control. En tercer lugar, nuestros datos podrían ser solo aplicables a áreas con una epidemiología similar de las infecciones bacteriémicas por *E. coli*. Las fortalezas incluyen el hecho de que la detección de ST131 se realizó en tiempo real, siendo (según nuestro conocimiento) el primer estudio prospectivo sobre las implicaciones de ST131 en pacientes con bacteriemia no productora de BLEE y la recopilación de datos clínicos cuidadosa y detallada.

## CONCLUSIONES

1. La prevalencia de colonización intestinal por *E. coli* ST131 (productor y no productor de BLEE) fue mayor en convivientes de personas con infección comunitaria por estos microorganismos que la de los contactos hospitalarios de pacientes con infección nosocomial.
2. Los factores asociados a mayor riesgo de colonización intestinal en convivientes de pacientes con infección comunitaria por *E. coli* ST131 (productor y no productor de BLEE) fueron el uso de inhibidores de la bomba de protones y la mayor edad de los pacientes índice; y en el caso de los contactos nosocomiales, el estar encamado y tener una sonda urinaria.
3. Los factores asociados a mayor riesgo de bacteriemia por *E. coli* ST131 no productor de BLEE entre los pacientes con bacteriemia por *E. coli* fueron la cirugía en el mes previo y la bacteriemia de origen desconocido.
4. La bacteriemia por *E. coli* ST131 no productor de BLEE no se asoció con un riesgo diferente de presentación en forma de sepsis grave o shock, de mortalidad o de fracaso clínico, respecto a otros aislados de *E. coli*.

## BIBLIOGRAFÍA

- Adeolu M, Alnajar S, Naushad S, S Gupta R. Genome-based phylogeny and taxonomy of the “Enterobacteriales”: proposal for Enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2016;66(12):5575-5599. doi:[10.1099/ijsem.0.001485](https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001485)
- Algoribi MF, Gibreel TM, Dodgson AR, Beatson SA, Upton M. Galleria mellonella infection model demonstrates high lethality of ST69 and ST127 uropathogenic E. coli. *PLoS ONE*. 2014;9(7):e101547. doi:[10.1371/journal.pone.0101547](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101547)
- Amos GCA, Hawkey PM, Gaze WH, Wellington EM. Waste water effluent contributes to the dissemination of CTX-M-15 in the natural environment. *J Antimicrob Chemother*. 2014;69(7):1785-1791. doi:[10.1093/jac/dku079](https://doi.org/10.1093/jac/dku079)
- Andreu A, Planells I, Grupo Cooperativo Español para el Estudio de la Sensibilidad Antimicrobiana de los Patógenos Urinario. [Etiology of community-acquired lower urinary infections and antimicrobial resistance of Escherichia coli: a national surveillance study]. *Med Clin (Barc)*. 2008;130(13):481-486. doi:[10.1157/13119488](https://doi.org/10.1157/13119488)
- Arpin C, Quentin C, Grobost F, et al. Nationwide survey of extended-spectrum {beta}-lactamase-producing Enterobacteriaceae in the French community setting. *J Antimicrob Chemother*. 2009;63(6):1205-1214. doi:[10.1093/jac/dkp108](https://doi.org/10.1093/jac/dkp108)

- Arvand M, Moser V, Pfeifer Y. Prevalence of extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and spread of the epidemic clonal lineage ST131 in nursing homes in Hesse, Germany. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68(11):2686-2688. doi:[10.1093/jac/dkt226](https://doi.org/10.1093/jac/dkt226)
- Banerjee R, Johnson JR. A new clone sweeps clean: the enigmatic emergence of *Escherichia coli* sequence type 131. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(9):4997-5004. doi:[10.1128/AAC.02824-14](https://doi.org/10.1128/AAC.02824-14)
- Banerjee R, Johnston B, Lohse C, Porter SB, Clabots C, Johnson JR. *Escherichia coli* sequence type 131 is a dominant, antimicrobial-resistant clonal group associated with healthcare and elderly hosts. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2013;34(4):361-369. doi:[10.1086/669865](https://doi.org/10.1086/669865)
- Banerjee R, Robicsek A, Kuskowski MA, et al. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* sequence type 131 and Its H30 and H30-Rx subclones among extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-positive and -negative *E. coli* clinical isolates from the Chicago Region, 2007 to 2010. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(12):6385-6388. doi:[10.1128/AAC.01604-13](https://doi.org/10.1128/AAC.01604-13)
- Bell JM, Turnidge JD, Gales AC, Pfaller MA, Jones RN, Sentry APAC Study Group. Prevalence of extended spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing clinical isolates in the Asia-Pacific region and South Africa: regional results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1998-99). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2002;42(3):193-198. doi:[10.1016/s0732-8893\(01\)00353-4](https://doi.org/10.1016/s0732-8893(01)00353-4)
- Bisercić M, Feutrier JY, Reeves PR. Nucleotide sequences of the *gnd* genes from nine natural isolates of *Escherichia coli*: evidence of intragenic recombination as a contributing factor in the evolution of the polymorphic *gnd* locus. *J Bacteriol.* 1991;173(12):3894-3900. doi:[10.1128/jb.173.12.3894-3900.1991](https://doi.org/10.1128/jb.173.12.3894-3900.1991)

- Blanco J, Alonso MP, González EA, Blanco M, Garabal JI. Virulence factors of bacteraemic *Escherichia coli* with particular reference to production of cytotoxic necrotising factor (CNF) by P-fimbriate strains. *J Med Microbiol.* 1990;31(3):175-183. doi:[10.1099/00222615-31-3-175](https://doi.org/10.1099/00222615-31-3-175)
- Blanco J, Mora A, Mamani R, et al. National survey of *Escherichia coli* causing extraintestinal infections reveals the spread of drug-resistant clonal groups O25b:H4-B2-ST131, O15:H1-D-ST393 and CGA-D-ST69 with high virulence gene content in Spain. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66(9):2011-2021. doi:[10.1093/jac/dkr235](https://doi.org/10.1093/jac/dkr235)
- Blanco M, Blanco JE, Alonso MP, et al. Detection of pap, sfa and afa adhesin-encoding operons in uropathogenic *Escherichia coli* strains: relationship with expression of adhesins and production of toxins. *Res Microbiol.* 1997;148(9):745-755. doi:[10.1016/s0923-2508\(97\)82450-3](https://doi.org/10.1016/s0923-2508(97)82450-3)
- Blanco M, Alonso MP, Nicolas-Chanoine M-H, et al. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in Lugo (Spain): dissemination of clone O25b:H4-ST131 producing CTX-M-15. *J Antimicrob Chemother.* 2009;63(6):1135-1141. doi:[10.1093/jac/dkp122](https://doi.org/10.1093/jac/dkp122)
- Bonnet R, Sampaio JL, Chanal C, et al. A novel class A extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (BES-1) in *Serratia marcescens* isolated in Brazil. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44(11):3061-3068. doi:[10.1128/aac.44.11.3061-3068.2000](https://doi.org/10.1128/aac.44.11.3061-3068.2000)
- Briales A, Rodríguez-Martínez JM, Velasco C, et al. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants qnr and aac(6')-Ib-cr in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in Spain. *Int J Antimicrob Agents.* 2012;39(5):431-434. doi:[10.1016/j.ijantimicag.2011.12.009](https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.12.009)

- Broussier M, Gbaguidi-Haoré H, Rachidi-Berjamy F, Bertrand X, Slekovec C. Prevalence, genetic diversity of and factors associated with ESBL-producing Enterobacterales carriage in residents of French nursing homes. *J Hosp Infect.* 2020;104(4):469-475. doi:[10.1016/j.jhin.2019.12.008](https://doi.org/10.1016/j.jhin.2019.12.008)
- Burgess MJ, Johnson JR, Porter SB, et al. Long-Term Care Facilities Are Reservoirs for Antimicrobial-Resistant Sequence Type 131 Escherichia coli. *Open Forum Infect Dis.* 2015;2(1):ofv011. doi:[10.1093/ofid/ofv011](https://doi.org/10.1093/ofid/ofv011)
- Cagnacci S, Gualco L, Debbia E, Schito GC, Marchese A. European emergence of ciprofloxacin-resistant Escherichia coli clonal groups O25:H4-ST 131 and O15:K52:H1 causing community-acquired uncomplicated cystitis. *J Clin Microbiol.* 2008;46(8):2605-2612. doi:[10.1128/JCM.00640-08](https://doi.org/10.1128/JCM.00640-08)
- Can F, Azap OK, Seref C, Ispir P, Arslan H, Ergonul O. Emerging Escherichia coli O25b/ST131 clone predicts treatment failure in urinary tract infections. *Clin Infect Dis.* 2015;60(4):523-527. doi:[10.1093/cid/ciu864](https://doi.org/10.1093/cid/ciu864)
- Cerquetti M, Giufrè M, García-Fernández A, et al. Ciprofloxacin-resistant, CTX-M-15-producing Escherichia coli ST131 clone in extraintestinal infections in Italy. *Clin Microbiol Infect.* 2010;16(10):1555-1558. doi:[10.1111/j.1469-0691.2010.03162.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03162.x)
- Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis.* 1987;40(5):373-383. doi:[10.1016/0021-9681\(87\)90171-8](https://doi.org/10.1016/0021-9681(87)90171-8)
- Cheng M-F, Chen W-L, Hung W-Y, et al. Emergence of extended spectrum- $\beta$ -lactamase-producing Escherichia coli O25b-ST131: a major community-acquired

- uropathogen in infants. *Pediatr Infect Dis J.* 2015;34(5):469-475. doi:[10.1097/INF.0000000000000623](https://doi.org/10.1097/INF.0000000000000623)
- Cho SY, Kang C-I, Cha MK, et al. Clinical Features and Treatment Outcomes of Bloodstream Infections Caused by Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli* Sequence Type 131. *Microb Drug Resist.* 2015;21(4):463-469. doi:[10.1089/mdr.2014.0261](https://doi.org/10.1089/mdr.2014.0261)
  - Chung H-C, Lai C-H, Lin J-N, et al. Bacteremia caused by extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* sequence type ST131 and non-ST131 clones: comparison of demographic data, clinical features, and mortality. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(2):618-622. doi:[10.1128/AAC.05753-11](https://doi.org/10.1128/AAC.05753-11)
  - Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Appl Environ Microbiol.* 2000;66(10):4555-4558. doi:[10.1128/aem.66.10.4555-4558.2000](https://doi.org/10.1128/aem.66.10.4555-4558.2000)
  - 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](https://doi.org/10.1111/1758-2229.12019)
  - Colomer-Lluch M, Mora A, López C, et al. Detection of quinolone-resistant *Escherichia coli* isolates belonging to clonal groups O25b:H4-B2-ST131 and O25b:H4-D-ST69 in raw sewage and river water in Barcelona, Spain. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68(4):758-765. doi:[10.1093/jac/dks477](https://doi.org/10.1093/jac/dks477)
  - Coque TM, Novais A, Carattoli A, et al. Dissemination of clonally related *Escherichia coli* strains expressing extended-spectrum beta-lactamase CTX-M-15. *Emerging Infect Dis.* 2008;14(2):195-200. doi:[10.3201/eid1402.070350](https://doi.org/10.3201/eid1402.070350)



- Cullik A, Pfeifer Y, Prager R, von Baum H, Witte W. A novel IS26 structure surrounds blaCTX-M genes in different plasmids from German clinical Escherichia coli isolates. *J Med Microbiol.* 2010;59(Pt 5):580-587. doi:[10.1099/jmm.0.016188-0](https://doi.org/10.1099/jmm.0.016188-0)
- Da Silva GJ, Mendonça N. Association between antimicrobial resistance and virulence in Escherichia coli. *Virulence.* 2012;3(1):18-28. doi:[10.4161/viru.3.1.18382](https://doi.org/10.4161/viru.3.1.18382)
- Dhanji H, Doumith M, Rooney PJ, et al. Molecular epidemiology of fluoroquinolone-resistant ST131 Escherichia coli producing CTX-M extended-spectrum beta-lactamases in nursing homes in Belfast, UK. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66(2):297-303. doi:[10.1093/jac/dkq463](https://doi.org/10.1093/jac/dkq463)
- Dias RCS, Moreira BM, Riley LW. Use of fimH single-nucleotide polymorphisms for strain typing of clinical isolates of Escherichia coli for epidemiologic investigation. *J Clin Microbiol.* 2010;48(2):483-488. doi:[10.1128/JCM.01858-09](https://doi.org/10.1128/JCM.01858-09)
- Díaz MA, Hernández-Bello JR, Rodríguez-Baño J, et al. Diversity of Escherichia coli strains producing extended-spectrum beta-lactamases in Spain: second nationwide study. *J Clin Microbiol.* 2010;48(8):2840-2845. doi:[10.1128/JCM.02147-09](https://doi.org/10.1128/JCM.02147-09)
- Diestra K, Coque TM, Miró E, et al. [Characterization and molecular epidemiology of ESBL in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in 11 Spanish hospitals (2004)]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008;26(7):404-410. doi:[10.1157/13125636](https://doi.org/10.1157/13125636)

- Doi Y, Arakawa Y. 16S ribosomal RNA methylation: emerging resistance mechanism against aminoglycosides. *Clin Infect Dis*. 2007;45(1):88-94. doi:[10.1086/518605](https://doi.org/10.1086/518605)
- Doumith M, Day MJ, Hope R, Wain J, Woodford N. Improved multiplex PCR strategy for rapid assignment of the four major *Escherichia coli* phylogenetic groups. *J Clin Microbiol*. 2012;50(9):3108-3110. doi:[10.1128/JCM.01468-12](https://doi.org/10.1128/JCM.01468-12)
- Drews SJ, Poutanen SM, Mazzulli T, et al. Decreased prevalence of virulence factors among ciprofloxacin-resistant uropathogenic *Escherichia coli* isolates. *J Clin Microbiol*. 2005;43(8):4218-4220. doi:[10.1128/JCM.43.8.4218-4220.2005](https://doi.org/10.1128/JCM.43.8.4218-4220.2005)
- Dubois D, Delmas J, Cady A, et al. Cyclomodulins in urosepsis strains of *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol*. 2010;48(6):2122-2129. doi:[10.1128/JCM.02365-09](https://doi.org/10.1128/JCM.02365-09)
- Egea P, López-Cerero L, Navarro MD, Rodríguez-Baño J, Pascual A. Assessment of the presence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in eggshells and ready-to-eat products. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2011;30(9):1045-1047. doi:[10.1007/s10096-011-1168-3](https://doi.org/10.1007/s10096-011-1168-3)
- Egea P, López-Cerero L, Torres E, et al. Increased raw poultry meat colonization by extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in the south of Spain. *Int J Food Microbiol*. 2012;159(2):69-73. doi:[10.1016/j.ijfoodmicro.2012.08.002](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.08.002)
- Ender PT, Gajanana D, Johnston B, Clabots C, Tamarkin FJ, Johnson JR. Transmission of an extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* (sequence type ST131) strain between a father and daughter resulting in septic

shock and Emphysematous pyelonephritis. *J Clin Microbiol.* 2009;47(11):3780-3782. doi:[10.1128/JCM.01361-09](https://doi.org/10.1128/JCM.01361-09)

- ECDC. Factsheet for experts - Antimicrobial resistance. European Centre for Disease Prevention and Control. <https://www.ecdc.europa.eu/en/antimicrobial-resistance/facts/factsheets/experts>.
- Ewers C, Grobbel M, Stamm I, et al. Emergence of human pandemic O25:H4-ST131 CTX-M-15 extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* among companion animals. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65(4):651-660. doi:[10.1093/jac/dkq004](https://doi.org/10.1093/jac/dkq004)
- Fang L, Nowicki BJ, Urvil P, et al. Epithelial invasion by *Escherichia coli* bearing Dr fimbriae is controlled by nitric oxide-regulated expression of CD55. *Infect Immun.* 2004;72(5):2907-2914. doi:[10.1128/iai.72.5.2907-2914.2004](https://doi.org/10.1128/iai.72.5.2907-2914.2004)
- Fernández J, Montero I, Fleites A, Rodicio MR. Cluster of *Escherichia coli* isolates producing a plasmid-mediated OXA-48  $\beta$ -lactamase in a Spanish hospital in 2012. *J Clin Microbiol.* 2014;52(9):3414-3417. doi:[10.1128/JCM.01271-14](https://doi.org/10.1128/JCM.01271-14)
- Fernández-Martínez M, Ruiz Del Castillo B, Lecea-Cuello MJ, et al. Prevalence of Aminoglycoside-Modifying Enzymes in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Producing Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamases Collected in Two Multicenter Studies in Spain. *Microb Drug Resist.* 2018;24(4):367-376. doi:[10.1089/mdr.2017.0102](https://doi.org/10.1089/mdr.2017.0102)
- Galimand M, Courvalin P, Lambert T. Plasmid-mediated high-level resistance to aminoglycosides in Enterobacteriaceae due to 16S rRNA methylation. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47(8):2565-2571. doi:[10.1128/aac.47.8.2565-2571.2003](https://doi.org/10.1128/aac.47.8.2565-2571.2003)

- Garénaux A, Caza M, Dozois CM. The Ins and Outs of siderophore mediated iron uptake by extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Vet Microbiol.* 2011;153(1-2):89-98. doi:[10.1016/j.vetmic.2011.05.023](https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.05.023)
- Gonçalves D, Cecílio P, Ferreira H. Nursing homes and long-term care facilities: Reservoirs of CTX-M-15-producing *Escherichia coli* O25b-ST131 in Portugal. *J Glob Antimicrob Resist.* 2016;7:69-71. doi:[10.1016/j.jgar.2016.08.001](https://doi.org/10.1016/j.jgar.2016.08.001)
- Grundmann H, Glasner C, Albigier B, et al. Occurrence of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in the European survey of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE): a prospective, multinational study. *Lancet Infect Dis.* 2017;17(2):153-163. doi:[10.1016/S1473-3099\(16\)30257-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30257-2)
- Guenther S, Ewers C, Wieler LH. Extended-Spectrum Beta-Lactamases Producing *E. coli* in Wildlife, yet Another Form of Environmental Pollution? *Front Microbiol.* 2011;2:246. doi:[10.3389/fmicb.2011.00246](https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00246)
- Guyer DM, Radulovic S, Jones F-E, Mobley HLT. Sat, the secreted autotransporter toxin of uropathogenic *Escherichia coli*, is a vacuolating cytotoxin for bladder and kidney epithelial cells. *Infect Immun.* 2002;70(8):4539-4546. doi:[10.1128/iai.70.8.4539-4546.2002](https://doi.org/10.1128/iai.70.8.4539-4546.2002)
- Hall LM, Livermore DM, Gur D, Akova M, Akalin HE. OXA-11, an extended-spectrum variant of OXA-10 (PSE-2) beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993;37(8):1637-1644. doi:[10.1128/aac.37.8.1637](https://doi.org/10.1128/aac.37.8.1637)

- Han JH, Garrigan C, Johnston B, et al. Epidemiology and characteristics of Escherichia coli sequence type 131 (ST131) from long-term care facility residents colonized intestinally with fluoroquinolone-resistant Escherichia coli. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2017;87(3):275-280. doi:[10.1016/j.diagmicrobio.2016.11.016](https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2016.11.016)
- Hernández JR, Pascual A, Cantón R, Martínez-Martínez L, Grupo de Estudio de Infección Hospitalaria. GEIH. [Extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in spanish hospitals (GEIH-BLEE Project 2002)]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2003;21(2):77-82.
- Herzer PJ, Inouye S, Inouye M, Whittam TS. Phylogenetic distribution of branched RNA-linked multicopy single-stranded DNA among natural isolates of Escherichia coli. *J Bacteriol.* 1990;172(11):6175-6181. doi:[10.1128/jb.172.11.6175-6181.1990](https://doi.org/10.1128/jb.172.11.6175-6181.1990)
- Hilty M, Betsch BY, Bögli-Stuber K, et al. Transmission dynamics of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae in the tertiary care hospital and the household setting. *Clin Infect Dis.* 2012;55(7):967-975. doi:[10.1093/cid/cis581](https://doi.org/10.1093/cid/cis581)
- Huizinga P, van den Bergh MK-, van Rijen M, Willemsen I, van 't Veer N, Kluytmans J. Proton Pump Inhibitor Use Is Associated With Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae Rectal Carriage at Hospital Admission: A Cross-Sectional Study. *Clin Infect Dis.* 2017;64(3):361-363. doi:[10.1093/cid/ciw743](https://doi.org/10.1093/cid/ciw743)
- Hussain A, Ranjan A, Nandanwar N, Babbar A, Jadhav S, Ahmed N. Genotypic and phenotypic profiles of Escherichia coli isolates belonging to clinical sequence type 131 (ST131), clinical non-ST131, and fecal non-ST131 lineages from India.

*Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(12):7240-7249.  
doi:[10.1128/AAC.03320-14](https://doi.org/10.1128/AAC.03320-14)

- Johnson JR. Virulence factors in Escherichia coli urinary tract infection. *Clin Microbiol Rev.* 1991;4(1):80-128. doi:[10.1128/cmr.4.1.80](https://doi.org/10.1128/cmr.4.1.80)
- Johnson JR, Stell AL. Extended virulence genotypes of Escherichia coli strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise. *J Infect Dis.* 2000;181(1):261-272. doi:[10.1086/315217](https://doi.org/10.1086/315217)
- Johnson JR, Davis G, Clabots C, et al. Household Clustering of Escherichia coli Sequence Type 131 Clinical and Fecal Isolates According to Whole Genome Sequence Analysis. *Open Forum Infect Dis.* 2016;3(3):ofw129. doi:[10.1093/ofid/ofw129](https://doi.org/10.1093/ofid/ofw129)
- Johnson JR, Gajewski A, Lesse AJ, Russo TA. Extraintestinal pathogenic Escherichia coli as a cause of invasive nonurinary infections. *J Clin Microbiol.* 2003;41(12):5798-5802. doi:[10.1128/jcm.41.12.5798-5802.2003](https://doi.org/10.1128/jcm.41.12.5798-5802.2003)
- Johnson JR, Miller S, Johnston B, Clabots C, Debroy C. Sharing of Escherichia coli sequence type ST131 and other multidrug-resistant and Urovirulent E. coli strains among dogs and cats within a household. *J Clin Microbiol.* 2009;47(11):3721-3725. doi:[10.1128/JCM.01581-09](https://doi.org/10.1128/JCM.01581-09)
- Johnson JR, Nicolas-Chanoine M-H, DebRoy C, et al. Comparison of Escherichia coli ST131 pulsotypes, by epidemiologic traits, 1967-2009. *Emerging Infect Dis.* 2012;18(4):598-607. doi:[10.3201/eid1804.111627](https://doi.org/10.3201/eid1804.111627)
- Johnson JR, Porter SB, Zhanel G, Kuskowski MA, Denamur E. Virulence of Escherichia coli clinical isolates in a murine sepsis model in relation to sequence

type ST131 status, fluoroquinolone resistance, and virulence genotype. *Infect Immun.* 2012;80(4):1554-1562. doi:[10.1128/IAI.06388-11](https://doi.org/10.1128/IAI.06388-11)

- Johnson JR, Tchesnokova V, Johnston B, et al. Abrupt emergence of a single dominant multidrug-resistant strain of *Escherichia coli*. *J Infect Dis.* 2013;207(6):919-928. doi:[10.1093/infdis/jis933](https://doi.org/10.1093/infdis/jis933)
- Johnson JR, Urban C, Weissman SJ, et al. Molecular epidemiological analysis of *Escherichia coli* sequence type ST131 (O25:H4) and blaCTX-M-15 among extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *E. coli* from the United States, 2000 to 2009. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(5):2364-2370. doi:[10.1128/AAC.05824-11](https://doi.org/10.1128/AAC.05824-11)
- Johnson JR, van der Schee C, Kuskowski MA, Goessens W, van Belkum A. Phylogenetic background and virulence profiles of fluoroquinolone-resistant clinical *Escherichia coli* isolates from the Netherlands. *J Infect Dis.* 2002;186(12):1852-1856. doi:[10.1086/345767](https://doi.org/10.1086/345767)
- Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol.* 2004;2(2):123-140. doi:[10.1038/nrmicro818](https://doi.org/10.1038/nrmicro818)
- 72.
- Kim J, Bae IK, Jeong SH, Chang CL, Lee CH, Lee K. Characterization of IncF plasmids carrying the blaCTX-M-14 gene in clinical isolates of *Escherichia coli* from Korea. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66(6):1263-1268. doi:[10.1093/jac/dkr106](https://doi.org/10.1093/jac/dkr106)
- Klemm P, Christiansen G. Three fim genes required for the regulation of length and mediation of adhesion of *Escherichia coli* type 1 fimbriae. *Mol Gen Genet.* 1987;208(3):439-445. doi:[10.1007/bf00328136](https://doi.org/10.1007/bf00328136)

- Kudinha T, Johnson JR, Andrew SD, Kong F, Anderson P, Gilbert GL. Genotypic and phenotypic characterization of *Escherichia coli* isolates from children with urinary tract infection and from healthy carriers. *Pediatr Infect Dis J*. 2013;32(5):543-548. doi:[10.1097/INF.0b013e31828ba3f1](https://doi.org/10.1097/INF.0b013e31828ba3f1)
- Kudinha T, Johnson JR, Andrew SD, Kong F, Anderson P, Gilbert GL. *Escherichia coli* sequence type 131 as a prominent cause of antibiotic resistance among urinary *Escherichia coli* isolates from reproductive-age women. *J Clin Microbiol*. 2013;51(10):3270-3276. doi:[10.1128/JCM.01315-13](https://doi.org/10.1128/JCM.01315-13)
- Laraki N, Galleni M, Thamm I, et al. Structure of In31, a blaIMP-containing *Pseudomonas aeruginosa* integron phyletically related to In5, which carries an unusual array of gene cassettes. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999;43(4):890-901.
- Lavigne J-P, Bouziges N, Chanal C, Mahamat A, Michaux-Charachon S, Sotto A. Molecular epidemiology of Enterobacteriaceae isolates producing extended-spectrum beta-lactamases in a French hospital. *J Clin Microbiol*. 2004;42(8):3805-3808. doi:[10.1128/JCM.42.8.3805-3808.2004](https://doi.org/10.1128/JCM.42.8.3805-3808.2004)
- Lavigne J-P, Vergunst AC, Goret L, et al. Virulence potential and genomic mapping of the worldwide clone *Escherichia coli* ST131. *PLoS ONE*. 2012;7(3):e34294. doi:[10.1371/journal.pone.0034294](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034294)
- Lee MY, Choi HJ, Choi JY, et al. Dissemination of ST131 and ST393 community-onset, ciprofloxacin-resistant *Escherichia coli* clones causing urinary tract infections in Korea. *J Infect*. 2010;60(2):146-153. doi:[10.1016/j.jinf.2009.11.004](https://doi.org/10.1016/j.jinf.2009.11.004)
- Leflon-Guibout V, Blanco J, Amaqdouf K, Mora A, Guize L, Nicolas-Chanoine M-H. Absence of CTX-M enzymes but high prevalence of clones, including clone



- ST131, among fecal *Escherichia coli* isolates from healthy subjects living in the area of Paris, France. *J Clin Microbiol.* 2008;46(12):3900-3905. doi:[10.1128/JCM.00734-08](https://doi.org/10.1128/JCM.00734-08)
- Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med.* 2003;31(4):1250-1256. doi:[10.1097/01.CCM.0000050454.01978.3B](https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000050454.01978.3B)
  - Liakopoulos A, van den Bunt G, Geurts Y, et al. High Prevalence of Intra-Familial Co-colonization by Extended-Spectrum Cephalosporin Resistant Enterobacteriaceae in Preschool Children and Their Parents in Dutch Households. *Front Microbiol.* 2018;9:293. doi:[10.3389/fmicb.2018.00293](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00293)
  - Lindberg S, Xia Y, Sondén B, Göransson M, Hacker J, Uhlin BE. Regulatory Interactions among adhesin gene systems of uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun.* 2008;76(2):771-780. doi:[10.1128/IAI.01010-07](https://doi.org/10.1128/IAI.01010-07)
  - López-Cerero L, Bellido M del M, Serrano L, et al. *Escherichia coli* O25b:H4/ST131 are prevalent in Spain and are often not associated with ESBL or quinolone resistance. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2013;31(6):385-388. doi:[10.1016/j.eimc.2012.09.005](https://doi.org/10.1016/j.eimc.2012.09.005)
  - López-Cerero L, Navarro MD, Bellido M, et al. *Escherichia coli* belonging to the worldwide emerging epidemic clonal group O25b/ST131: risk factors and clinical implications. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69(3):809-814. doi:[10.1093/jac/dkt405](https://doi.org/10.1093/jac/dkt405)
  - Luo C, Walk ST, Gordon DM, Feldgarden M, Tiedje JM, Konstantinidis KT. Genome sequencing of environmental *Escherichia coli* expands understanding of the ecology and speciation of the model bacterial species. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011;108(17):7200-7205. doi:[10.1073/pnas.1015622108](https://doi.org/10.1073/pnas.1015622108)

- Madigan T, Johnson JR, Clabots C, et al. Extensive Household Outbreak of Urinary Tract Infection and Intestinal Colonization due to Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli* Sequence Type 131. *Clin Infect Dis.* 2015;61(1):e5-12. doi:[10.1093/cid/civ273](https://doi.org/10.1093/cid/civ273)
- Magiorakos A-P, Srinivasan A, Carey RB, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(3):268-281. doi:[10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x)
- Marchiaro P, Ballerini V, Spalding T, et al. A convenient microbiological assay employing cell-free extracts for the rapid characterization of Gram-negative carbapenemase producers. *J Antimicrob Chemother.* 2008;62(2):336-344. doi:[10.1093/jac/dkn185](https://doi.org/10.1093/jac/dkn185)
- Martínez-Martínez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet.* 1998;351(9105):797-799. doi:[10.1016/S0140-6736\(97\)07322-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(97)07322-4)
- Mathers AJ, Peirano G, Pitout JDD. The role of epidemic resistance plasmids and international high-risk clones in the spread of multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Rev.* 2015;28(3):565-591. doi:[10.1128/CMR.00116-14](https://doi.org/10.1128/CMR.00116-14)
- Matsumoto Y, Inoue M. Characterization of SFO-1, a plasmid-mediated inducible class A beta-lactamase from *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999;43(2):307-313.

- Matsumura Y, Johnson JR, Yamamoto M, et al. CTX-M-27- and CTX-M-14-producing, ciprofloxacin-resistant *Escherichia coli* of the H30 subclonal group within ST131 drive a Japanese regional ESBL epidemic. *J Antimicrob Chemother.* 2015;70(6):1639-1649. doi:[10.1093/jac/dkv017](https://doi.org/10.1093/jac/dkv017)
- McCABE WR, Jackson GG. Gram-Negative Bacteremia: I. Etiology and Ecology. *Arch Intern Med.* 1962;110(6):847-855. doi:[10.1001/archinte.1962.03620240029006](https://doi.org/10.1001/archinte.1962.03620240029006)
- Mendonça N, Ferreira E, Louro D, ARSIP Participants, Caniça M. Molecular epidemiology and antimicrobial susceptibility of extended- and broad-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolated in Portugal. *Int J Antimicrob Agents.* 2009;34(1):29-37. doi:[10.1016/j.ijantimicag.2008.11.014](https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.11.014)
- Mohamed M, Clabots C, Porter SB, Bender T, Thuras P, Johnson JR. Large Fecal Reservoir of *Escherichia coli* Sequence Type 131-H30 Subclone Strains That Are Shared Within Households and Resemble Clinical ST131-H30 Isolates. *J Infect Dis.* 2020;221(10):1659-1668. doi:[10.1093/infdis/jiz669](https://doi.org/10.1093/infdis/jiz669)
- Mora A, Herrera A, Mamani R, et al. Recent emergence of clonal group O25b:K1:H4-B2-ST131 *ibeA* strains among *Escherichia coli* poultry isolates, including CTX-M-9-producing strains, and comparison with clinical human isolates. *Appl Environ Microbiol.* 2010;76(21):6991-6997. doi:[10.1128/AEM.01112-10](https://doi.org/10.1128/AEM.01112-10)
- Morris D, McGarry E, Cotter M, et al. Detection of OXA-48 carbapenemase in the pandemic clone *Escherichia coli* O25b:H4-ST131 in the course of investigation of an outbreak of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(7):4030-4031. doi:[10.1128/AAC.00638-12](https://doi.org/10.1128/AAC.00638-12)

- Murray PR, Baron EJ. *Manual of Clinical Microbiology*. Washington, D.C.: ASM Press; 2007.
- Naas T, Poirel L, Nordmann P. Minor extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Microbiol Infect*. 2008;14 Suppl 1:42-52. doi:[10.1111/j.1469-0691.2007.01861.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01861.x)
- Naseer U, Haldorsen B, Simonsen GS, Sundsfjord A. Sporadic occurrence of CMY-2-producing multidrug-resistant *Escherichia coli* of ST-complexes 38 and 448, and ST131 in Norway. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16(2):171-178. doi:[10.1111/j.1469-0691.2009.02861.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02861.x)
- Nicolas-Chanoine M-H, Bertrand X, Madec J-Y. *Escherichia coli* ST131, an intriguing clonal group. *Clin Microbiol Rev*. 2014;27(3):543-574. doi:[10.1128/CMR.00125-13](https://doi.org/10.1128/CMR.00125-13)
- Nicolas-Chanoine M-H, Gruson C, Bialek-Davenet S, et al. 10-Fold increase (2006-11) in the rate of healthy subjects with extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* faecal carriage in a Parisian check-up centre. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68(3):562-568. doi:[10.1093/jac/dks429](https://doi.org/10.1093/jac/dks429)
- Nordmann P, Mammeri H. Extended-spectrum cephalosporinases: structure, detection and epidemiology. *Future Microbiol*. 2007;2(3):297-307. doi:[10.2217/17460913.2.3.297](https://doi.org/10.2217/17460913.2.3.297)
- Novais A, Pires J, Ferreira H, et al. Characterization of globally spread *Escherichia coli* ST131 isolates (1991 to 2010). *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56(7):3973-3976. doi:[10.1128/AAC.00475-12](https://doi.org/10.1128/AAC.00475-12)
- Ochman H, Selander RK. Standard reference strains of *Escherichia coli* from natural populations. *J Bacteriol*. 1984;157(2):690-693.

- Ortega A, Sáez D, Bautista V, et al. Carbapenemase-producing *Escherichia coli* is becoming more prevalent in Spain mainly because of the polyclonal dissemination of OXA-48. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71(8):2131-2138. doi:[10.1093/jac/dkw148](https://doi.org/10.1093/jac/dkw148)
- Overdeest I, Haverkate M, Veenemans J, et al. Prolonged colonisation with *Escherichia coli* O25:ST131 versus other extended-spectrum beta-lactamase-producing *E. coli* in a long-term care facility with high endemic level of rectal colonisation, the Netherlands, 2013 to 2014. *Euro Surveill.* 2016;21(42). doi:[10.2807/1560-7917.ES.2016.21.42.30376](https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.42.30376)
- Owens RC, Johnson JR, Stogsdill P, Yarmus L, Lolans K, Quinn J. Community transmission in the United States of a CTX-M-15-producing sequence type ST131 *Escherichia coli* strain resulting in death. *J Clin Microbiol.* 2011;49(9):3406-3408. doi:[10.1128/JCM.00993-11](https://doi.org/10.1128/JCM.00993-11)
- Partridge SR, Ellem JA, Tetu SG, Zong Z, Paulsen IT, Iredell JR. Complete sequence of pJIE143, a *pir*-type plasmid carrying ISEcp1-*bla*CTX-M-15 from an *Escherichia coli* ST131 isolate. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55(12):5933-5935. doi:[10.1128/AAC.00639-11](https://doi.org/10.1128/AAC.00639-11)
- Paulshus E, Thorell K, Guzman-Otazo J, et al. Repeated Isolation of Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamase-Positive *Escherichia coli* Sequence Types 648 and 131 from Community Wastewater Indicates that Sewage Systems Are Important Sources of Emerging Clones of Antibiotic-Resistant Bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* 2019;63(9). doi:[10.1128/AAC.00823-19](https://doi.org/10.1128/AAC.00823-19)
- Peirano G, Pitout JDD. Fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* sequence type 131 isolates causing bloodstream infections in a canadian region with a centralized laboratory system: rapid emergence of the H30-Rx sublineage.

*Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(5):2699-2703. doi:[10.1128/AAC.00119-14](https://doi.org/10.1128/AAC.00119-14)

- Peirano G, Richardson D, Nigrin J, et al. High prevalence of ST131 isolates producing CTX-M-15 and CTX-M-14 among extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolates from Canada. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(3):1327-1330. doi:[10.1128/AAC.01338-09](https://doi.org/10.1128/AAC.01338-09)
- Peirano G, Schreckenberger PC, Pitout JDD. Characteristics of NDM-1-producing *Escherichia coli* isolates that belong to the successful and virulent clone ST131. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55(6):2986-2988. doi:[10.1128/AAC.01763-10](https://doi.org/10.1128/AAC.01763-10)
- Philippon A, Arlet G, Jacoby GA. Plasmid-determined AmpC-type beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46(1):1-11. doi:[10.1128/aac.46.1.1-11.2002](https://doi.org/10.1128/aac.46.1.1-11.2002)
- Piazza A, Caltagirone M, Bitar I, et al. Emergence of *Escherichia coli* Sequence Type 131 (ST131) and ST3948 with KPC-2, KPC-3 and KPC-8 carbapenemases from a Long-Term Care and Rehabilitation Facility (LTCRF) in Northern Italy. *Adv Exp Med Biol.* 2016;901:77-89. doi:[10.1007/5584\\_2015\\_5017](https://doi.org/10.1007/5584_2015_5017)
- Picard B, Garcia JS, Gouriou S, et al. The link between phylogeny and virulence in *Escherichia coli* extraintestinal infection. *Infect Immun.* 1999;67(2):546-553.
- Piersigilli AL, Enrico MC, Bongiovanni ME, Bilbao LE, Martínez G, Ledesma EM. [Clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* producers of extended spectrum beta-lactamases at a private institution in Cordoba]. *Rev Chilena Infectol.* 2009;26(4):331-335. doi:[S0716-10182009000500004](https://doi.org/S0716-10182009000500004)

- Pitout JDD, Campbell L, Church DL, Gregson DB, Laupland KB. Molecular characteristics of travel-related extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolates from the Calgary Health Region. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(6):2539-2543. doi:[10.1128/AAC.00061-09](https://doi.org/10.1128/AAC.00061-09)
- Pitout JDD, DeVinney R. *Escherichia coli* ST131: a multidrug-resistant clone primed for global domination. *F1000Res.* 2017;6. doi:[10.12688/f1000research.10609.1](https://doi.org/10.12688/f1000research.10609.1)
- Poirel L, Le Thomas I, Naas T, Karim A, Nordmann P. Biochemical sequence analyses of GES-1, a novel class A extended-spectrum beta-lactamase, and the class 1 integron In52 from *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44(3):622-632. doi:[10.1128/aac.44.3.622-632.2000](https://doi.org/10.1128/aac.44.3.622-632.2000)
- Poirel L, Naas T, Guibert M, Chaibi EB, Labia R, Nordmann P. Molecular and biochemical characterization of VEB-1, a novel class A extended-spectrum beta-lactamase encoded by an *Escherichia coli* integron gene. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999;43(3):573-581.
- Poirel L, Brinas L, Verlinde A, Ide L, Nordmann P. BEL-1, a novel clavulanic acid-inhibited extended-spectrum beta-lactamase, and the class 1 integron In120 in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49(9):3743-3748. doi:[10.1128/AAC.49.9.3743-3748.2005](https://doi.org/10.1128/AAC.49.9.3743-3748.2005)
- Pomba C, López-Cerero L, Bellido M, et al. Within-lineage variability of ST131 *Escherichia coli* isolates from humans and companion animals in the south of Europe. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69(1):271-273. doi:[10.1093/jac/dkt343](https://doi.org/10.1093/jac/dkt343)
- Pomba C, da Fonseca JD, Baptista BC, Correia JD, Martínez-Martínez L. Detection of the pandemic O25-ST131 human virulent *Escherichia coli* CTX-M-

15-producing clone harboring the qnrB2 and aac(6')-Ib-cr genes in a dog. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(1):327-328. doi:[10.1128/AAC.00896-08](https://doi.org/10.1128/AAC.00896-08)

- Price LB, Johnson JR, Aziz M, et al. The epidemic of extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* ST131 is driven by a single highly pathogenic subclone, H30-Rx. *mBio.* 2013;4(6):e00377-00313. doi:[10.1128/mBio.00377-13](https://doi.org/10.1128/mBio.00377-13)
- Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infect Dis.* 2006;6(10):629-640. doi:[10.1016/S1473-3099\(06\)70599-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(06)70599-0)
- Rodríguez-Baño J, Alcalá JC, Cisneros JM, et al. Community infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Arch Intern Med.* 2008;168(17):1897-1902. doi:[10.1001/archinte.168.17.1897](https://doi.org/10.1001/archinte.168.17.1897)
- Rodríguez-Baño J, López-Cerero L, Navarro MD, Díaz de Alba P, Pascual A. Faecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*: prevalence, risk factors and molecular epidemiology. *J Antimicrob Chemother.* 2008;62(5):1142-1149. doi:[10.1093/jac/dkn293](https://doi.org/10.1093/jac/dkn293)
- Rodríguez-Baño J, Mingorance J, Fernández-Romero N, et al. Outcome of bacteraemia due to extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli*: impact of microbiological determinants. *J Infect.* 2013;67(1):27-34. doi:[10.1016/j.jinf.2013.04.006](https://doi.org/10.1016/j.jinf.2013.04.006)
- Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, et al. Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in nonhospitalized patients. *J Clin Microbiol.* 2004;42(3):1089-1094. doi:[10.1128/jcm.42.3.1089-1094.2004](https://doi.org/10.1128/jcm.42.3.1089-1094.2004)



- Romero L, López L, Rodríguez-Baño J, Ramón Hernández J, Martínez-Martínez L, Pascual A. Long-term study of the frequency of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates producing extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Microbiol Infect.* 2005;11(8):625-631. doi:[10.1111/j.1469-0691.2005.01194.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01194.x)
- Ruiz J, Gómez J, Navia MM, et al. High prevalence of nalidixic acid resistant, ciprofloxacin susceptible phenotype among clinical isolates of *Escherichia coli* and other Enterobacteriaceae. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2002;42(4):257-261. doi:[10.1016/s0732-8893\(01\)00357-1](https://doi.org/10.1016/s0732-8893(01)00357-1)
- Russo TA, Johnson JR. Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of *Escherichia coli*: ExPEC. *J Infect Dis.* 2000;181(5):1753-1754. doi:[10.1086/315418](https://doi.org/10.1086/315418)
- Selander RK, Musser JM, Caugant DA, Gilmour MN, Whittam TS. Population genetics of pathogenic bacteria. *Microb Pathog.* 1987;3(1):1-7. doi:[10.1016/0882-4010\(87\)90032-5](https://doi.org/10.1016/0882-4010(87)90032-5)
- Sidjabat HE, Paterson DL, Adams-Haduch JM, et al. Molecular epidemiology of CTX-M-producing *Escherichia coli* isolates at a tertiary medical center in western Pennsylvania. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(11):4733-4739. doi:[10.1128/AAC.00533-09](https://doi.org/10.1128/AAC.00533-09)
- Silva J, Aguilar C, Ayala G, et al. TLA-1: a new plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamase from *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44(4):997-1003. doi:[10.1128/aac.44.4.997-1003.2000](https://doi.org/10.1128/aac.44.4.997-1003.2000)
- Skaar EP. The battle for iron between bacterial pathogens and their vertebrate hosts. *PLoS Pathog.* 2010;6(8):e1000949. doi:[10.1371/journal.ppat.1000949](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000949)

- Smet A, Martel A, Persoons D, et al. Characterization of extended-spectrum beta-lactamases produced by *Escherichia coli* isolated from hospitalized and nonhospitalized patients: emergence of CTX-M-15-producing strains causing urinary tract infections. *Microb Drug Resist.* 2010;16(2):129-134. doi:[10.1089/mdr.2009.0132](https://doi.org/10.1089/mdr.2009.0132)
- Smith CA, Baker EN. Aminoglycoside antibiotic resistance by enzymatic deactivation. *Curr Drug Targets Infect Disord.* 2002;2(2):143-160. doi:[10.2174/1568005023342533](https://doi.org/10.2174/1568005023342533)
- Spurbeck RR, Stapleton AE, Johnson JR, Walk ST, Hooton TM, Mobley HLT. Fimbrial profiles predict virulence of uropathogenic *Escherichia coli* strains: contribution of *ygi* and *yad* fimbriae. *Infect Immun.* 2011;79(12):4753-4763. doi:[10.1128/IAI.05621-11](https://doi.org/10.1128/IAI.05621-11)
- Stoesser N, Sheppard AE, Peirano G, et al. First Report of blaIMP-14 on a Plasmid Harboring Multiple Drug Resistance Genes in *Escherichia coli* Sequence Type 131. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60(8):5068-5071. doi:[10.1128/AAC.00840-16](https://doi.org/10.1128/AAC.00840-16)
- Stoesser N, Sheppard AE, Peirano G, et al. Complete Sequencing of Plasmids Containing blaOXA-163 and blaOXA-48 in *Escherichia coli* Sequence Type 131. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60(11):6948-6951. doi:[10.1128/AAC.01130-16](https://doi.org/10.1128/AAC.01130-16)
- Sukupolvi S, O'Connor CD. TraT lipoprotein, a plasmid-specified mediator of interactions between gram-negative bacteria and their environment. *Microbiol Rev.* 1990;54(4):331-341.

- Suzuki S, Shibata N, Yamane K, Wachino J, Ito K, Arakawa Y. Change in the prevalence of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in Japan by clonal spread. *J Antimicrob Chemother.* 2009;63(1):72-79. doi:[10.1093/jac/dkn463](https://doi.org/10.1093/jac/dkn463)
- Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect Dis.* 2018;18(3):318-327. doi:[10.1016/S1473-3099\(17\)30753-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30753-3)
- Talaminos A, López-Cerero L, Calvillo J, Pascual A, Roa LM, Rodríguez-Baño J. Modelling the epidemiology of *Escherichia coli* ST131 and the impact of interventions on the community and healthcare centres. *Epidemiol Infect.* 2016;144(9):1974-1982. doi:[10.1017/S0950268816000030](https://doi.org/10.1017/S0950268816000030)
- Torres E, López-Cerero L, Morales I, Navarro MD, Rodríguez-Baño J, Pascual A. Prevalence and transmission dynamics of *Escherichia coli* ST131 among contacts of infected community and hospitalized patients. *Clin Microbiol Infect.* 2018;24(6):618-623. doi:[10.1016/j.cmi.2017.09.007](https://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.09.007)
- Totsika M, Kostakioti M, Hannan TJ, et al. A FimH inhibitor prevents acute bladder infection and treats chronic cystitis caused by multidrug-resistant uropathogenic *Escherichia coli* ST131. *J Infect Dis.* 2013;208(6):921-928. doi:[10.1093/infdis/jit245](https://doi.org/10.1093/infdis/jit245)
- Uchida Y, Mochimaru T, Morokuma Y, et al. Clonal spread in Eastern Asia of ciprofloxacin-resistant *Escherichia coli* serogroup O25 strains, and associated virulence factors. *Int J Antimicrob Agents.* 2010;35(5):444-450. doi:[10.1016/j.ijantimicag.2009.12.012](https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2009.12.012)

- Velasco C, Romero L, Martínez JMR, Rodríguez-Baño J, Pascual A. Analysis of plasmids encoding extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) from *Escherichia coli* isolated from non-hospitalised patients in Seville. *Int J Antimicrob Agents*. 2007;29(1):89-92. doi:[10.1016/j.ijantimicag.2006.08.027](https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2006.08.027)
- Vigil PD, Alteri CJ, Mobley HLT. Identification of in vivo-induced antigens including an RTX family exoprotein required for uropathogenic *Escherichia coli* virulence. *Infect Immun*. 2011;79(6):2335-2344. doi:[10.1128/IAI.00110-11](https://doi.org/10.1128/IAI.00110-11)
- Vigil PD, Stapleton AE, Johnson JR, et al. Presence of putative repeat-in-toxin gene *tosA* in *Escherichia coli* predicts successful colonization of the urinary tract. *mBio*. 2011;2(3):e00066-00011. doi:[10.1128/mBio.00066-11](https://doi.org/10.1128/mBio.00066-11)
- Vila J, Ruiz J, Marco F, et al. Association between double mutation in *gyrA* gene of ciprofloxacin-resistant clinical isolates of *Escherichia coli* and MICs. *Antimicrob Agents Chemother*. 1994;38(10):2477-2479. doi:[10.1128/aac.38.10.2477](https://doi.org/10.1128/aac.38.10.2477)
- Vincent C, Boerlin P, Daignault D, et al. Food reservoir for *Escherichia coli* causing urinary tract infections. *Emerging Infect Dis*. 2010;16(1):88-95. doi:[10.3201/eid1601.091118](https://doi.org/10.3201/eid1601.091118)
- Walsh TR, Weeks J, Livermore DM, Toleman MA. Dissemination of NDM-1 positive bacteria in the New Delhi environment and its implications for human health: an environmental point prevalence study. *Lancet Infect Dis*. 2011;11(5):355-362. doi:[10.1016/S1473-3099\(11\)70059-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70059-7)
- Wang S, Niu C, Shi Z, et al. Effects of *ibeA* deletion on virulence and biofilm formation of avian pathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun*. 2011;79(1):279-287. doi:[10.1128/IAI.00821-10](https://doi.org/10.1128/IAI.00821-10)

- Weinstein MP, Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.*; 2019.
- Weissman SJ, Johnson JR, Tchesnokova V, et al. High-resolution two-locus clonal typing of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol.* 2012;78(5):1353-1360. doi:[10.1128/AEM.06663-11](https://doi.org/10.1128/AEM.06663-11)
- Whitfield C. Biosynthesis and assembly of capsular polysaccharides in *Escherichia coli*. *Annu Rev Biochem.* 2006;75:39-68. doi:[10.1146/annurev.biochem.75.103004.142545](https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.75.103004.142545)
- WHO. Antibiotic resistance. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>.
- Wiles TJ, Kulesus RR, Mulvey MA. Origins and virulence mechanisms of uropathogenic *Escherichia coli*. *Exp Mol Pathol.* 2008;85(1):11-19. doi:10.1016/j.yexmp.2008.03.007
- Woodford N, Ward ME, Kaufmann ME, et al. Community and hospital spread of *Escherichia coli* producing CTX-M extended-spectrum beta-lactamases in the UK. *J Antimicrob Chemother.* 2004;54(4):735-743. doi:[10.1093/jac/dkh424](https://doi.org/10.1093/jac/dkh424)
- Woodford N, Carattoli A, Karisik E, Underwood A, Ellington MJ, Livermore DM. Complete nucleotide sequences of plasmids pEK204, pEK499, and pEK516, encoding CTX-M enzymes in three major *Escherichia coli* lineages from the United Kingdom, all belonging to the international O25:H4-ST131 clone. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(10):4472-4482. doi:10.1128/AAC.00688-09

- Wu P-C, Wang J-L, Hsueh P-R, et al. Prevalence and risk factors for colonization by extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing or ST 131 *Escherichia coli* among asymptomatic adults in community settings in Southern Taiwan. *Infect Drug Resist.* 2019;12:1063-1071. doi:[10.2147/IDR.S201086](https://doi.org/10.2147/IDR.S201086)
- Wu Y-H, Cheng M-F, Lai C-H, Lin H-H, Hung C-H, Wang J-L. The role of Sequence Type (ST) 131 in adult community-onset non-ESBL-producing *Escherichia coli* bacteraemia. *BMC Infect Dis.* 2014;14:579. doi:[10.1186/s12879-014-0579-z](https://doi.org/10.1186/s12879-014-0579-z)
- Zong Z. Complete sequence of pJIE186-2, a plasmid carrying multiple virulence factors from a sequence type 131 *Escherichia coli* O25 strain. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(1):597-600. doi:[10.1128/AAC.01081-12](https://doi.org/10.1128/AAC.01081-12)
- Zong Z, Yu R, Wang X, Lü X. blaCTX-M-65 is carried by a Tn1722-like element on an IncN conjugative plasmid of ST131 *Escherichia coli*. *J Med Microbiol.* 2011;60(Pt 4):435-441. doi:[10.1099/jmm.0.026997-0](https://doi.org/10.1099/jmm.0.026997-0)