



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

INFORME DE INVESTIGACIÓN SOBRE:

**“CARACTERIZACIÓN DE *ENTEROBACTERALES* CON BETALACTAMASAS
DE ESPECTRO EXTENDIDO EN INFECCIONES URINARIAS DE ADULTOS
MAYORES DE LA UNIDAD DE SALUD DE PELILEO”**

Requisito previo para optar por el Título de Licenciado en Laboratorio Clínico

Autora: Guamanquispe Rojano, Ana Elizabeth

Tutora: BqCl Mg. Jaramillo Ruales, Evelyn Katherine

Ambato – Ecuador

Enero 2026

APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutora del Proyecto de Investigación con el tema:
**“CARACTERIZACIÓN DE *ENTEROBACTERALES* CON
BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN
INFECCIONES URINARIAS DE ADULTOS MAYORES DE LA
UNIDAD DE SALUD DE PELILEO”** de la Srta. Guamanquispe Rojano Ana
Elizabeth, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad
Técnica de Ambato. Considero que reúne los requisitos y méritos suficientes
para ser sometido a la evaluación por el Jurado examinador designado por el
Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Salud.

Ambato, Enero 2026

LA TUTORA

BqCl Mg. Jaramillo Ruales, Evelyn Katherine

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Los criterios emitidos en el trabajo de investigación sobre:

“CARACTERIZACIÓN DE *ENTEROBACTERALES* CON BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN INFECCIONES URINARIAS DE ADULTOS MAYORES DE LA UNIDAD DE SALUD DE PELILEO” como también los contenidos, ideas, objetivos y futura aplicación del trabajo de investigación son de exclusiva responsabilidad de mi persona, como autor de este trabajo de grado.

Ambato, Enero 2026

LA AUTORA

Guamanquispe Rojano, Ana Elizabeth

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de esta tesis o parte de ella un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación.

Cedo los derechos en línea patrimonial de mi tesis con fines de difusión pública; además, apruebo la reproducción de este proyecto de investigación, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autora.

Ambato, Enero 2026

LA AUTORA

Guamanquispe Rojano, Ana Elizabeth

APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR

Los miembros del Tribunal Examinador aprueban el Informe de Investigación, sobre el Tema: **“CARACTERIZACIÓN DE *ENTEROBACTERALES* CON BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN INFECCIONES URINARIAS DE ADULTOS MAYORES DE LA UNIDAD DE SALUD DE PELILEO”** de Guamanquispe Rojano Ana Elizabeth, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico.

Ambato, Enero 2026

Para constancia firman:

PRESIDENTE/A

1er VOCAL

2do VOCAL

DEDICATORIA

El presente trabajo investigativo, va dedicado primero a יהוה que me ha permitido estar hoy aquí, dándome el privilegio de culminar mis estudios y de compartir mis éxitos con cada una de las personas que aprecio.

Se lo dedico a mis padres, quienes me han brindado todo su apoyo incondicional, y cada uno de estos logros son gracias a ellos, por su esfuerzo en el trabajo, para brindarme a mí y a mis hermanos la facilidad de poder culminar una etapa de nuestras vidas. A mi hermana y mi cuñado, que han sido como mis otros padres ayudándome a no rendirme y a mis hermanos que siempre me dieron momentos de relajación.

A mis bolitas que me están enseñando otra etapa de mi vida, todo este esfuerzo es por el mejor regalo que me dio יהוה y son otra parte incondicional de mi vida por las cuales en este momento estamos acabando este proceso y las que vendrán.

Guamanquispe Rojano, Ana Elizabeth

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mis padres por enseñarme a luchar por cada uno de mis sueños siendo pilares fundamentales de mi vida, quienes a pesar de todo me siguen apoyando, y guiándome con sus consejos para luchar por mis objetivos.

Al personal que conforma el Laboratorios de Docencia de Microbiología, Biología Celular y Molecular y el Laboratorio de Investigación, de la Facultad de Ciencias de la Salud de Universidad Técnica de Ambato, por haberme permitido llevar a cabo este proyecto.

Agradezco a mi querida tutora BqCl. Mg. Jaramillo Ruales, Evelyn Katherine, por acompañarme en este proceso aun cuando tuvimos todo el tiempo en contra. Su dedicación y paciencia guiaron este proyecto, motivándonos a mejorar en cada etapa y obtener mejores resultados. A mi compañero de tesis Joel Yáñez, por ayudarnos a cumplir este trabajo, muchas gracias por tu apoyo y hacer del trabajo duro algo más ameno.

A mis docentes universitarios, quien me apoyaron durante mi formación profesional, brindándome sus conocimientos y siendo parte de cada experiencia durante mi estancia en esta carrera.

A mi querida amiga y licenciada Jeniffer Lucero por impedir que me rindiera, guiándome y enseñándome a superar los obstáculos que se presenten en el camino.

Guamanquispe Rojano, Ana Elizabeth

ÍNDICE GENERAL

PORTADA	i
APROBACIÓN DEL TUTOR	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	iii
DERECHOS DE AUTOR	iv
APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE GENERAL	viii
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS	x
RESUMEN	xii
SUMMARY	xiii
INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN	2
CAPITULO I	3
MARCO TEÓRICO	3
1.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	3
1.2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	6
1.2.1. Infección de tracto urinario	6
1.2.2. Clasificación	7
1.2.3. Factores de riesgo	7
1.2.4. Agentes etiológicos comunes	8
1.2.5. Diagnóstico	9
1.3. OBJETIVOS	12
1.3.1. Objetivo General	12
1.3.2. Objetivos Específicos	12
1.4. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN	13
CAPITULO II	14
2.1 MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS	14
2.1.1. Humanos	14
2.1.2. Institucionales	14
2.1.3. Materiales, reactivos y equipos	14
2.2. MÉTODOS	15

2.2.1. Nivel o tipo de investigación.....	15
2.2.2. Enfoque de la investigación	15
2.3 SELECCIÓN DEL ÁREA O ÁMBITO DE ESTUDIO.....	15
2.4 POBLACIÓN Y MUESTRA.....	16
2.5 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN	16
2.5.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN	16
2.5.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	17
2.6 VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN	17
2.7 DESCRIPCIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS	17
2.7.1. Consentimiento Informado.....	17
2.7.2. Codificación de los pacientes.....	17
2.7.3. Protocolo toma de muestra.....	18
2.7.4. Procesamiento de muestras de orina (Examen microscópico y elemental de orina)	20
2.7.5. Cultivo bacteriano	20
2.7.6. Tinción GRAM de las muestras	21
2.7.7. Pruebas Bioquímicas	22
2.7.8. Determinación de la Susceptibilidad a los antibióticos.....	22
2.7.9. Extracción de ADN	24
2.7.10. Reacción en cadena de la polimerasa.....	25
2.7.11. Control de calidad	28
CAPÍTULO III	30
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
3.1 ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	30
3.1.1. Análisis microbiológicos.....	30
3.1.2. Análisis Molecular	36
3.1.3. Análisis de los factores de riesgo asociados a infecciones del tracto urinario.	39
3.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS FACTORES DE RIESGO Y LA PRESENCIA DE ITU.....	43
3.3 ASOCIACIÓN DE LOS FACTORES DE RIESGO CON BLEE	44
3.4 VALIDACIÓN DE LA HIPÓTESIS	46
3.5 DISCUSIÓN.....	46
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	52
4.1. Conclusiones.....	52
4.2. Recomendaciones	53

BIBLIOGRAFÍAS	53
Anexo 1. Fotografías del proceso del desarrollo del proyecto de investigación	61
Anexo 2. Operacionalización de variables	65
Anexo 3. Encuesta	67
Anexo 4. Consentimiento informado	68

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Preparación de la Máster Mix.....	25
Tabla 2. Temperatura/tiempo de la reacción para blaCTX-M	26
Tabla 3. Temperatura/tiempo de la reacción para bla-TEM	26
Tabla 4. Temperatura/tiempo de la reacción para bla-SHV	26
Tabla 5. Control de calidad Agar MacConkey	28
Tabla 6. Control de calidad de los discos de antibióticos.....	28
Tabla 7. Concentraciones de ADN de las muestras de E. coli BLEE	29
Tabla 8. Controles usados para el estudio molecular	29
Tabla 9. Prevalencia de infección del tracto urinario (ITU).....	30
Tabla 10. Frecuencia de Enterobacterales spp. aislados.....	31
Tabla 11. Perfil de susceptibilidad de Escherichia coli BLEE	34
Tabla 12. Perfil de susceptibilidad de Klebsiella spp. BLEE	35
Tabla 13. Perfil de susceptibilidad de Providencia rettgeri BLEE	36
Tabla 14. Análisis estadístico con la prueba de chi-cuadrado	43
Tabla 15. Frecuencia entre el género y la asociación BLEE	44
Tabla 16. Frecuencia entre enfermedades relacionadas con BLEE.....	44
Tabla 17. Frecuencia entre la higiene personal relacionada con BLEE	44
Tabla 18. Frecuencia entre la hidratación y la presencia de BLEE	45
Tabla 19. Frecuencia entre el sedentarismo y la presencia de BLEE.....	45
Tabla 20. Frecuencia entre la hospitalización y la presencia de BLEE.....	45
Tabla 21. Análisis estadístico con la prueba del chi-cuadrado para la validación de hipótesis.....	46

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. PCR Convencional	12
Gráfico 2. Toma de muestra de orina – Mujeres	19

Gráfico 3. Toma de muestra de orina – Hombres.....	19
Gráfico 4. Tinción GRAM.....	21
Gráfico 5. Detección de BLEE	23
Gráfico 6. Flujograma para extracción de ADN.....	25
Gráfico 7. Prevalencia de Infección del Tracto Urinario (ITU)	31
Gráfico 8. Porcentajes de Enterobacteriales spp. identificados	31
Gráfico 9. Perfil de susceptibilidad de Escherichia coli	32
Gráfico 10. Perfil de susceptibilidad de Klebsiella spp.....	33
Gráfico 11. Electroforesis del gen bla _{CTX-M}	37
Gráfico 12. Electroforesis del gen bla _{TEM}	37
Gráfico 13. Electroforesis del gen bla _{SHV}	38
Gráfico 14. Reporte de genes productores de BLEE.....	38
Gráfico 15. Asociación del género con el resultado del urocultivo.....	39
Gráfico 16. Asociación entre la frecuencia de la higiene personal y el urocultivo	39
Gráfico 17. Asociación entre la frecuencia de enfermedades crónicas con los resultados del urocultivo.....	40
Gráfico 18. Asociación entre el nivel de la hidratación y los resultados del urocultivo	41
Gráfico 19. Asociación entre el sedentarismo y los resultados del urocultivo	41
Gráfico 20. Asociación entre los pacientes hospitalizados y los resultados del urocultivo.....	42
Gráfico 21. Socialización del proyecto de investigación.....	61
Gráfico 22. Crecimiento cepa control ATCC 25922.	61
Gráfico 23. Análisis de muestras de orina.	61
Gráfico 24. Contaje de colonias en agar Mackonkey.	62
Gráfico 25. Siembra en tubos para identificación	62
Gráfico 26. Medida de halos de inhibición.....	62
Gráfico 27. Cepa productora de betalactamasas (BLEE)	63
Gráfico 28. Extracción de ADN bacteriano por shock térmico.....	63
Gráfico 29. Cuantificación de ADN en el equipo Nanodrop.....	63
Gráfico 30. Preparación de la Master Mix y realización de la Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	64
Gráfico 31. Corrida electroforética y lectura.....	64

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

“CARACTERIZACIÓN DE *ENTEROBACTERALES* CON BETALACTAMASAS DE
ESPECTRO EXTENDIDO EN INFECCIONES URINARIAS DE ADULTOS
MAYORES DE LA UNIDAD DE SALUD DE PELILEO”

Autora: Guamanquispe Rojano, Ana Elizabeth

Tutora: BqCl. Mg. Jaramillo Ruales, Evelyn Katherine

Fecha: Enero 2026

RESUMEN

La resistencia antimicrobiana especialmente en infecciones del tracto urinario (ITU) en adultos mayores ha sido un desafío creciente, estas infecciones pueden ser particularmente graves debido a factores de riesgo y un sistema inmunológico debilitado. Este estudio tuvo como objetivo caracterizar *Enterobacteriales spp.* con betalactamasas de espectro extendido en infecciones urinarias de adultos mayores de la unidad de salud de Pelileo. Se recolectaron muestras de orina a un total de 80 pacientes que acudían a la unidad de salud en el período establecido, fueron procesadas por métodos microbiológicos convencionales, prueba de susceptibilidad y detección molecular de los genes BLEE mediante PCR convencional. Los resultados mostraron que el patógeno más prevalente fue *Escherichia coli*, con un 53,13% (17/32) de los casos aislados, seguido de *K. oxytoca* 21,88% (7/32), *K. pneumoniae* 18,75% (6/32) y *K. aerogenes* 3,13% (1/32), además de la caracterización poco frecuente de *Providencia rettgeri* con un 3,1% (1/32). El perfil de susceptibilidad evidenció resistencia a betalactámicos en el 15,63% (5/32) de las cepas aisladas y la identificación molecular de los genes confirmó que los mecanismos de resistencia están codificados principalmente por los genes *bla_{CTX-M}* y *bla_{TEM}*. Este estudio aporta datos relevantes para la vigilancia epidemiológica local, subraya la necesidad de control de infecciones asociados a los factores de riesgo relacionados con el autocuidado de la población y propone estrategias preventivas orientadas a reducir la diseminación de cepas multirresistentes dentro de la población comunitaria.

PALABRAS CLAVES: INFECCIONES DEL TRACTO URINARIO, BACTERIURIA, *ESCHERICHIA COLI*, *ENTEROBACTERIACEAE*, ADULTO MAYOR, FACTORES DE RIESGO

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

“CHARACTERIZATION OF *Enterobacterales* WITH EXTENDED-SPECTRUM
BETA-LACTAMASES IN URINARY TRACT INFECTIONS OF ELDERLY
ADULTS AT THE PELILEO HEALTH UNIT”

Author: Guamanquispe Rojano, Ana Elizabeth

Tutor: BqCl. Mg. Jaramillo Ruales, Evelyn Katherine

Date: Enero 2026

SUMMARY

Antimicrobial resistance (AMR), particularly in urinary tract infections (UTI) in elderly adults, has become a growing challenge. These infections can be especially severe due to underlying risk factors and a weakened immune system. This study aimed to characterize *Enterobacterales spp.* with Extended-Spectrum Beta-Lactamases ESBL in urinary infections of elderly adults at the Pelileo Health Unit. Urine samples were collected from a total of 80 patients attending the health unit during the established period. The samples were processed using conventional microbiological methods, susceptibility testing, and molecular detection of ESBL genes via conventional PCR. The results showed that the most prevalent pathogen was *Escherichia coli*, found in 53.13% (17/32) of the isolated cases, followed by *K. oxytoca* 21.88%, *K. pneumoniae* 18.75%, and *K. aerogenes* 3.13%, in addition to the less frequent characterization of *Providencia rettgeri* at 3.1%. The susceptibility profile demonstrated resistance to beta-lactams in 15.63% (5/32) of the isolated strains, and molecular identification confirmed that the resistance mechanisms are primarily encoded by the *bla_{CTX-M}* and *bla_{TEM}* genes. This study provides relevant data for local epidemiological surveillance, underscores the necessity for infection control associated with risk factors related to patient self-care, and proposes preventive strategies aimed at reducing the community dissemination of multi-resistant strains within the population.

KEYWORDS: URINARY TRACT INFECTIONS, BACTERIURIA, *ESCHERICHIA COLI*, *ENTEROBACTERIACEAE*, ELDERLY ADULT, RISK FACTORS.

INTRODUCCIÓN

La resistencia antimicrobiana especialmente en infecciones del tracto urinario (ITU) en adultos mayores ha sido un desafío creciente, estas infecciones pueden ser particularmente graves debido a factores de riesgo y un sistema inmunológico debilitado. En Tungurahua, los centros de salud han reportado un aumento significativo de casos de ITU causadas por bacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) (1). Estas enzimas confieren a las bacterias una resistencia elevada a los antibióticos betalactámicos, complicando el tratamiento y aumentando la morbilidad y mortalidad en esta población vulnerable (2).

Las BLEE son enzimas que hidrolizan el anillo betalactámico de antibióticos como, las penicilinas y las cefalosporinas, inactivándolos y dificultando el tratamiento de las infecciones (3). Los factores de riesgo han acelerado la aparición de cepas resistentes, complicando aún más la gestión de las ITU en adultos mayores. La resistencia a los antibióticos es un problema de salud pública cada vez mayor, con una creciente demanda de nuevos tratamientos, esta resistencia causa la muerte de alrededor de 700.000 personas al año y este número aumenta constantemente, con un número estimado de muertes de alrededor de 10 millones por año en 2050 (4).

Pese a la relevancia del campo de estudio, la literatura nacional sobre caracterización microbiológica y molecular de *Enterobacterales spp.* en adultos mayores con atención comunitaria es limitada, especialmente en hospitales de segundo nivel o con cobertura regional. Por ello, el presente estudio se desarrolló en la Unidad de Salud de Pelileo, con el objetivo de caracterizar *Enterobacterales spp.* con betalactamasas de espectro extendido en infecciones urinarias de adultos mayores, evaluando el perfil de resistencia antimicrobiana, tanto por métodos fenotípicos y moleculares y asociarlos con la frecuencia de los factores de riesgo. Los resultados de esta investigación pretenden contribuir con información relevante para fortalecer la vigilancia epidemiológica, controlar las infecciones del tracto urinario asociados a los factores de riesgo y propondrá estrategias orientadas a reducir la diseminación de cepas multirresistentes dentro de la población comunitaria.

JUSTIFICACIÓN

Las infecciones del tracto urinario (ITU) son procesos infecciosos que comprometen estructuras como la uretra, la vejiga, los uréteres y los riñones, por lo tanto, se ha convertido en una de las causas más comunes de consulta médica, tanto en la atención primaria y hospitalaria (5). En adultos mayores, la alta frecuencia y su severidad eleva la resistencia, debido a factores de riesgo como la edad, enfermedades crónicas, el uso de sondas urinarias, la administración inapropiada de antibióticos, entre otros. Como consecuencia, la eficacia terapéutica se ve comprometida por la creciente Resistencia a los Antimicrobianos (RAM) (6).

En los últimos años, se ha documentado un crecimiento constante en la presencia de *Enterobacteriales spp.* productores de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) a nivel internacional y nacional. Por ejemplo, a nivel nacional, la RAM es un problema de salud pública, estudios recientes en Ecuador han evidenciado su frecuencia, especialmente en cepas de *Escherichia coli* productoras de BLEE, limitando las opciones terapéuticas convencionales. Según datos del Ministerio de Salud Pública, esta problemática ha ido incrementando por el exceso de automedicación en la población con un 50% de los habitantes en zonas urbanas y un 63% en áreas rurales, en consecuencia, en el Plan Nacional para la Prevención y Control de la Resistencia Antimicrobiana guía a médicos el uso óptimo de los antibióticos (7,8).

Por otro lado, investigaciones han demostrado que las *Enterobacteriales spp.* en adultos mayores tienen la siguiente frecuencia: *Escherichia coli* representa el 88,1% de las ITU y las cuales son resistentes a múltiples antibióticos: trimetoprim (48,4 %), ampicilina (47,4%), ciprofloxacina (46,3%), cefalotina (45,3%), cefuroxima (36,8%), ceftazidima (35,8%) y ceftriaxona (28,4%). Finalmente, *Klebsiella spp* tiene un 6,6% y *Proteus spp* 3,0% en la frecuencia de ITU (4,9).

De este modo, este proyecto propone la caracterización de *Enterobacteriales spp.* productoras de BLEE en la Unidad de Salud de Pelileo con el fin de conocer la prevalencia en los aislamientos realizados en adultos mayores con ITU y asociarlos con sus factores de riesgo, los resultados beneficiaran directamente a pacientes y médicos que acuden a la unidad para orientar la administración racional de antibióticos y fortalecer las estrategias locales de vigilancia y control de la resistencia antimicrobiana.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Las infecciones del tracto urinario (ITU) son una de las causas más frecuentes de morbilidad en adultos mayores, especialmente en hombres se han evidenciado que los factores de riesgo como la depresión inmunológica, comorbilidades crónicas y el uso de catéteres urinarios son algunas de las causas que generan estas infecciones. Con respecto a los agentes causales, las principales *Enterobacterales spp.* son *Escherichia coli* y *Klebsiella spp.*, con una creciente prevalencia de cepas multirresistentes productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), como consecuencia representa un desafío en su tratamiento y se extiende la epidemiología global (10). A nivel internacional, recientemente se ha documentado un crecimiento constante en la presencia de *Enterobacterales spp.* productores de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE).

Los datos proporcionados por la investigación “*Impact of a Primary Care Antimicrobial Stewardship Program on Bacterial Resistance Control and Ecological Imprint in Urinary Tract Infections*” realizada por Alfredo Jover-Sáenz habla sobre un incremento en países asiáticos y europeos, donde los genes *CTX-M* se han vuelto predominantes, los datos reflejaron un crecimiento progresivo en la proporción de *E. coli* BLEE, pasando de un (7,6% a 8,1%) entre 2015 – 2017, mientras que *K. spp.* mostró un aumento de 18,6% en 2015 a 25,4% en el periodo 2016–2017, confirmando así, la expansión de forma continua de los mecanismos de resistencia en distintos entornos geográficos (11)

El estudio publicado en *Frontiers in Microbiology* por Alkan S, Balkan “*Urinary tract infections in older adults: associated factors for extended-spectrum beta-lactamase production*” analizó los patrones globales de resistencia antimicrobiana en ITU, identificando factores de riesgo entre ellos el uso previo de antimicrobianos, hospitalizaciones recientes, enfermedades crónicas y la utilización catéteres urinarios. *E. coli* continúa siendo la fuente de infección más frecuente, el cual tuvo una resistencia elevada frente a antibióticos de uso común como trimetoprim, ciprofloxacina y cefalosporinas (12).

En un estudio publicado en 2022, “*E. coli bacteraemia and antimicrobial resistance following antimicrobial prescribing for urinary tract infection in the community*”

realizado por Colin McCowan habla sobre prescripción antimicrobiana en atención primaria demostraron que los adultos mayores son el grupo más vulnerable para desarrollar bacteremia por *E. coli* resistente tras el tratamiento de ITU en la comunidad. De manera que la exposición repetida a antibióticos, muchas veces sin respaldo médico, favorece la resistencia de las cepas y el aumento en el riesgo de hospitalización y complicaciones (13).

Además, en el estudio realizado por Lino Villacreses titulado *“Tendencias epidemiológicas de las infecciones de las vías urinarias. Una realidad actual”* se analizó la epidemiología de ITU en la población latinoamericana, identificaron los factores de riesgo como la edad avanzada, sexo, uso de dispositivos invasivo y los antecedentes personales. Destacaron que estos factores no solo aumentan la susceptibilidad a infecciones, sino que también se relacionan con una mayor probabilidad de recurrencias y complicaciones clínicas (14). Así mismo, otra investigación realizada en un hospital universitario de referencia en el sur de Inglaterra desde enero de 2014 hasta diciembre de 2022 identificó una marcada variabilidad en los perfiles bacterianos según edad, género, y entorno clínico (15).

Posteriormente un estudio realizado en Brasil en una casa hogar para adultos mayores se evidenciaron factores asociados a tener ITU entre ellos el uso de pañales, uso de diuréticos, incontinencia urinaria y fecal, diabetes tipo 1, hiperplasia prostática benigna y la deshidratación, siendo este un factor modificable que aumentaba un 40% en contraer la infección, reforzando la urgencia de fomentar un consumo de agua dentro este grupo poblacional vulnerable. Se analizaron 116 adultos mayores con estas características de las cuales el 43.97% presentaron ITU. Por lo tanto, esto reveló la transcendencia de intensificar la vigilancia microbiana, optimizar el uso de antibióticos y ajustar tratamientos empíricos según la sensibilidad local, sobre todo en esta población con afecciones clínicas complicadas (16).

En el estudio titulado *“Epidemiological Profile and Antibiotic Resistance in Urinary Tract Infections Among Elderly Women”*, elaborado por Rodríguez F. se caracterizó la prevalencia de infecciones urinarias en adultas mayores y evaluaron los patrones de resistencia antimicrobiana asociados, este estudio además implementó procesos de automatización en el análisis microbiológico, permitiendo una mayor precisión en la identificación de patógenos y en la determinación de perfiles de sensibilidad. Los resultados evidenciaron que *E. coli* fue el agente predominante con un 68,1% en mujeres

con hospitalización y consulta externa mientras que, en mujeres con muestras recolectadas por catéteres urinarios tuvo un 46,9% y presentó resistencia a antibióticos comunes como: ampicilina, trimetoprim y ciprofloxacina (10).

En el estudio realizado en un centro académico de alto volumen en Italia entre 2015 y 2019, se analizó la epidemiología de los uropatógenos bacterianos y sus patrones de susceptibilidad antimicrobiana en pacientes con ITU, *E. coli* con un 48,9% fue el microorganismo más frecuente aislado, seguido por *Klebsiella* spp. 14,85% y *Enterococcus faecalis* 5,73%. La mayoría de las cepas de *E. coli* productoras de BLEE analizadas resultaron ser resistentes a ciprofloxacina y a cefalosporinas (como cefotaxima) (17).

En América Latina particularmente en Perú, diversos estudios han documentado una alta prevalencia de BLEE en cepas uropatógenas aisladas en Lima, Callao y regiones altoandinas, se han descrito factores clínicos y epidemiológicos que se asocian a la presencia de BLEE en clínicas privadas, en el estudio se identificó multirresistencia en el 100% de los aislamientos analizados, con coexistencia de genes BLEE (*bla_{TEM}*, *bla_{CTX-M}*, *bla_{SHV}*) en más del 30% de los casos como resultado se genera mayor capacidad invasiva y riesgo de bacteriemia (18). En la investigación de Gonzales Rodríguez A, en un centro geriátrico de Perú además de identificar los genes ya mencionados por PCR convencional se identificaron los factores de virulencia como son los genes *aer*, *chuA* y *nanA* en cepas de *E. coli* aisladas en los pacientes (19).

A nivel nacional, en un estudio realizado en Quito, Ecuador, se encontró que las infecciones urinarias comunitarias causadas por *E. coli* productora de BLEE iban en aumento y muchas de estas cepas eran resistentes de igual manera a fosfomicina (FOS). Esta doble resistencia podría estar relacionada con el uso de FOS como preventivo en la crianza de pollos, la aparición de plásmidos con genes de resistencia llegó a las personas a través de la carne cruda. Este estudio analizó 605 muestras de *E. coli* BLEE provenientes de granjas avícolas, canales de pollo en venta y pacientes con infección urinaria. Se encontró resistencia a FOS en el 50% de las muestras animales, 47,7% en los alimentos y 21,4% en humanos (20).

Entre 2021 y 2023, en un laboratorio de alta complejidad en Cuenca se analizaron 395 urocultivos positivos para determinar la prevalencia de bacterias causantes de ITU y sus mecanismos de resistencia. Las ITU afectaron principalmente a adultos y adultos mayores. *E. coli* con 88,1% fue el patógeno más común, seguido por *Klebsiella* spp. 6,6%

y *Proteus mirabilis* 3,0%. Además, *E. coli* mostró altos niveles de resistencia: 82,5% a ampicilina (AMP), 59,0% a ampicilina-sulbactam (SAM), 42,0% a ciprofloxacina (CIP) y 25,1% a cefazolina (CZ). En contraste, meropenem (MEM) presentó una sensibilidad del 100%, siendo este el antibiótico más efectivo frente a los aislamientos analizados. El estudio alertó sobre el impacto de la automedicación y la venta no regulada de antibióticos en el aumento de la resistencia bacteriana (9).

Por último, un estudio realizado en el Centro de Especialidades IESS La Libertad en Santa Elena entre 2019 y 2020 se analizaron 827 urocultivos, encontrando una prevalencia de ITU del 22,1%, principalmente en mujeres y adultos mayores. *Escherichia coli* fue el agente más frecuente con un 76,0% de las cepas encontradas, seguido por *Klebsiella oxytoca* 6,5%, *Klebsiella* spp. 5,8% y *Proteus mirabilis* 3,9%. En *E. coli* se observó alta resistencia a ácido nalidíxico 81,2%, ampicilina 79,9%, ciprofloxacina 72,6% y trimetoprim-sulfametoxazol 61,5%, mientras que *Klebsiella* spp. presentó 100% de resistencia a ampicilina y cefalotina. La investigación confirma una alta resistencia bacteriana y recomienda el mejorar el uso de antibióticos en Ecuador (4).

Considerando lo expuesto y en conjunto con los estudios nacionales e internacionales revisados, se confirma que las infecciones del tracto urinario en adultos mayores están especialmente causadas por *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp., las cuales presentan una creciente epidemiología de cepas multirresistentes productoras de *BLEE*. Los factores de riesgo como la edad avanzada, el uso de catéteres urinarios y la automedicación han favorecido la expansión de mecanismos de resistencia por el cual se ha documentado la ineficacia a antibióticos comúnmente utilizados como ampicilina, ciprofloxacina, trimetoprim y cefalosporinas, mientras que opciones como meropenem mantienen mayor eficacia en el tratamiento de infecciones del tracto urinario.

1.2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

1.2.1. Infección de tracto urinario

La infección del tracto urinario (ITU) es una condición clínica causada por la colonización y proliferación de microorganismos patógenos en las vías urinarias. Generalmente, estas infecciones se originan en la vejiga como resultado de una contaminación externa, y si no se tratan adecuadamente, pueden ascender a través de los uréteres hasta comprometer estructuras superiores como los túbulos renales, la pelvis renal y el parénquima del riñón, dando lugar a infecciones urinarias altas más graves (5)

Para que una ITU se considere significativa, la presencia de bacterias debe estar acompañada de leucocitos en la muestra de orina, lo cual indica una respuesta inflamatoria. En el análisis de orina, es común encontrar leucocituria, bacteriuria, hematuria, proteinuria leve y aumento del pH (5).

1.2.2. Clasificación

Las ITU pueden clasificarse según la localización anatómica:

- **ITU baja:** afecta la uretra y la vejiga; la cistitis es la forma más frecuente, especialmente en mujeres y niños, quienes suelen presentar síntomas como polaquiuria y disuria (5).
- **ITU alta:** compromete a los túbulos renales representando una forma más severa de infección (5).

1.2.3. Factores de riesgo

Edad y Sexo

La edad avanzada genera una mayor susceptibilidad a tener una ITU debido a los cambios anatómicos, inmunosupresión y otras enfermedades asociadas. En los adultos mayores, la prevalencia de bacteriuria asintomática y pielonefritis aumenta, especialmente en hombres y pacientes hospitalizados (21). A diferencia de las mujeres, que suelen presentar infecciones más simples debido a su anatomía, en los hombres mayores influyen otros factores como el crecimiento de la próstata, la dificultad para vaciar completamente la vejiga o el uso de sondas urinarias. Todo esto hace que el riesgo de infección sea mayor y su tratamiento más complejo (22).

Enfermedades Crónicas, uso de catéter urinario y hospitalización

La recurrencia de ITU en adultos mayores están relacionadas con enfermedades crónicas como diabetes, insuficiencia renal e incontinencia fecal. Estas condiciones aumentan el riesgo de hospitalización y complicaciones, especialmente cuando hay uso de catéteres, antecedentes de hospitalización o exposición previa a antibióticos. Además, la presencia de varias enfermedades al mismo tiempo favorece la resistencia a ciertos antibióticos, lo que complica el tratamiento (22–24).

Administración inadecuada de antibióticos

El uso previo de antibióticos, especialmente en el ámbito comunitario sin prescripción médica, es un factor que aumenta el riesgo de ITU y de resistencia antimicrobiana. Esta exposición puede alterar la flora bacteriana normal y favorecer la resistencia microbiana, lo que dificultando el tratamiento y eleva la probabilidad de recurrencia (13).

Hidratación

La hidratación adecuada cumple un rol fundamental en la prevención de infecciones urinarias, especialmente en personas con recurrencia. Aumentar la ingesta de agua puede reducir significativamente la frecuencia de infecciones y el uso de antibióticos. El beber más agua podrían tener relevancia, sobre todo en poblaciones vulnerables (25).

Actividad Física

La actividad física previene los síntomas de ITU, pero se ha demostrado que el sedentarismo se asocia a generar enfermedades como obesidad, diabetes y enfermedades cardiovasculares. Por lo tanto, los hábitos activos son parte de las estrategias preventivas para reducir el riesgo de infecciones (26).

1.2.4. Agentes etiológicos comunes

Las enterobacterias son microorganismos con una estructura celular compleja que incluye una membrana externa rica en lipopolisacáridos, dándoles una resistencia natural a muchos antibióticos y capacidad para evadir el sistema inmunológico. Entre los más frecuentes agentes etiológicos de ITU en adultos mayores tenemos:

Escherichia coli

Es un bacilo gramnegativo que habita normalmente en el intestino sin causar daño, puede colonizar el tracto urinario y tiene una frecuencia de 88.1% de las ITU, especialmente en condiciones de vulnerabilidad como el uso de catéteres o la exposición previa a antibióticos. Esta bacteria tiene una gran capacidad para desarrollar resistencia a varios antibióticos, especialmente en cepas productoras de *β-lactamasas de espectro extendido* (BLEE) (27).

Klebsiella spp.

Es una bacteria gramnegativa perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*. Tiene forma de bacilo y está recubierta por una cápsula que le da una apariencia mucosa y le permite evadir el sistema inmunológico. Aunque normalmente puede encontrarse en el intestino humano sin causar daño, se convierte en patógeno oportunista representando un 6.6% de

las infecciones de tracto urinario y al igual que *E. coli* tiene la capacidad de producir resistencia BLEE (27).

Proteus mirabilis

Es una bacteria gramnegativa en forma de bacilo que pertenece de igual manera a la familia *Enterobacteriaceae*. Es conocida por su capacidad de moverse activamente gracias a sus flagelos, lo que le permite colonizar el tracto urinario con facilidad. Una de sus características más importantes es la producción de ureasa, una enzima que descompone la urea en amoníaco, lo que alcaliniza la orina y favorece la formación de cálculos urinarios. (27).

1.2.5. Diagnóstico

Tipos de muestra

La calidad en el diagnóstico microbiológico de las infecciones del tracto urinario depende del tipo de muestra recolectada.

- **Muestra limpia del chorro medio:** Se obtiene durante la micción espontánea, descartando la primera parte del flujo urinario para evitar contaminación con flora genital o perineal. Es el método más común en pacientes ambulatorios y sirve para cultivos y análisis de orina habituales (28).
- **Muestra obtenida por cateterismo:** Esta muestra se recoge en condiciones estériles mediante un catéter desde la uretra hasta la vejiga. Es útil cuando no se puede obtener una muestra espontánea. Reduce el riesgo de contaminación (28).
- **Muestra al azar:** Se toma sin considerar el momento del día ni la fase de la micción. Puede ser útil para pruebas de cribado de rutina para detectar anomalías evidentes (28).
- **Muestra de 24 horas:** Consiste en recolectar toda la orina emitida durante un día completo. Se usa para estudios metabólicos, evaluación de función renal o excreción de sustancias específicas como proteínas, electrolitos o creatinina (28).

Examen microscópico y elemental de orina

En el examen permite analizar características físicas y químicas de la orina, como el color, el pH, la densidad, la presencia de nitritos o proteínas, en el microscopio se puede observar elementos como leucocitos, hematíes, bacterias y cristales. Se debe considerar

el tiempo para el análisis, la muestra debe analizarse en un máximo de 1 hora después de la recolección y en refrigeración es estable hasta 4 horas (29).

Cultivo

El urocultivo es fundamental para el diagnóstico etiológico de las infecciones del tracto urinario (ITU), ya que permite identificar el agente causal y cuantificar el crecimiento bacteriano mediante el recuento de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL). La interpretación de los resultados depende del tipo de muestra, en orina de chorro medio se considera significativo un crecimiento $\geq 10^5$ UFC/mL. Para que una muestra sea válida se debe aplicar criterios de exclusión que descarten muestras contaminadas, por ejemplo, aquellas con flora vaginal o crecimiento mixto (30).

Medios de cultivo para la identificación de agentes causales

Agar MacConkey (MAC)

Este medio de cultivo es selectivo y diferencial utilizado para el aislamiento de *Enterobacterias* y *Pseudomonas*, al contener sales biliares y cristal violeta inhiben el crecimiento de bacterias Gram positivas. Su función diferencial radica en la incorporación de lactosa y rojo neutro como indicador de pH. Esto permite distinguir dos tipos de colonias: las fermentadoras de lactosa, como *Escherichia coli* y *Klebsiella*, las cuales producen colonias de color rojo debido a la acidificación del medio, y las que no fermentadoras, como *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* y *Proteus*, que forman colonias incoloras o transparentes (31,32).

Agar CLED (Cisteína-Lactosa-Electrolito-Deficiente)

El agar CLED se utiliza rutinariamente para el urocultivo. Este medio de cultivo es deficiente en electrolitos el cual inhibe el crecimiento de *Proteus* y está diseñado para evaluar la capacidad de los microorganismos fermentadores de lactosa. Las cepas fermentadoras acidifican el medio, provocando un cambio de color de verde a amarillo, mientras que las no fermentadoras forman colonias incoloras y alcalinizan el medio, tornándolo azul (32,33).

Técnicas utilizadas para el aislamiento

La siembra de la orina es un paso esencial del urocultivo, ya que permite el aislamiento de las bacterias y su cuantificación en unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL). A diferencia de la siembra por agotamiento convencional se utiliza la técnica

de raya realizada con un asa generalmente de (1 µL o 10 µL) para asegurar que se inocule un volumen exacto de la muestra sobre el medio de cultivo (31).

Pruebas bioquímicas para la identificación bacteriana

Los medios de cultivo diferenciales permiten identificar características metabólicas específicas de bacterias, especialmente *Enterobacterias*.

El **agar TSI** contiene hierro con azúcar triple y detecta la fermentación de glucosa, lactosa y sacarosa, así como la producción de gas y H₂S, evidenciado por cambios de color en el medio. El **agar LIA** (lisina-hierro) permite evaluar la producción de lisina desaminasa, lisina descarboxilasa y H₂S, usando púrpura de bromocresol como indicador (34).

El **citrato de Simmons** evalúa si las bacterias pueden usar citrato como única fuente de carbono, cambiando de verde a azul si es positivo. El **medio SIM** permite detectar movilidad bacteriana, producción de indol (mediante el reactivo de Kovacs) y sulfuros, observando coloraciones específicas. Finalmente, las pruebas de rojo de metilo (RM) y Voges-Proskauer (VP) diferencian tipos de fermentación: RM identifica fermentación ácida mixta, mientras que VP detecta fermentación butilenglicólica realizadas en **VP/RM** (34).

Susceptibilidad bacteriana

La prueba de Kirby-Bauer, se usa en el laboratorio para saber la susceptibilidad bacteriana, se coloca la bacteria ya identificada en un medio especial llamado Müller-Hinton. Posteriormente se colocan discos que contienen distintos antibióticos sobre esa superficie, se la deja incubar 24 horas a 37 °C y se observa si la bacteria ha crecido alrededor de cada disco. Según el tamaño del área sin crecimiento, se lee si es sensible, intermedio o es resistente al antibiótico (35).

PCR

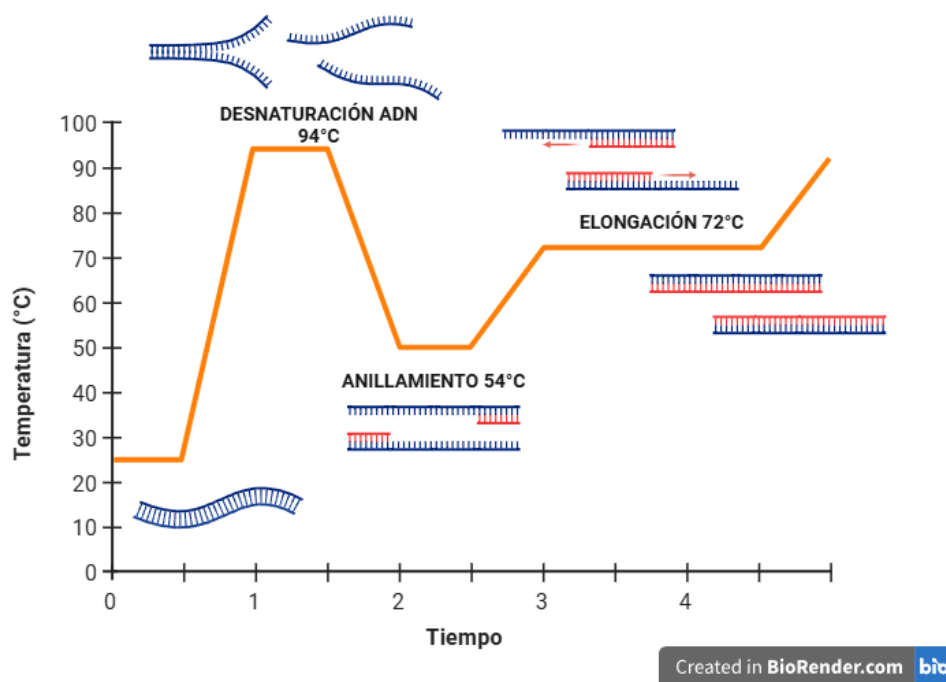
La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) es una reacción enzimática in vitro diseñada para amplificar millones de veces una secuencia específica de ADN blanco durante varios ciclos repetidos (36).

La PCR se desarrolla en tres etapas principales que se repiten en un termociclador:

- **Desnaturalización:** Separación de las cadenas de ADN por calentamiento (aprox. 95 °C) (36).

- **Hibridación (Annealing):** Alineación de los *primers* con la secuencia complementaria del templado (temperatura entre 50-60 °C) (36).
- **Extensión:** La ADN polimerasa sintetiza nuevas cadenas en dirección 5' a 3' (a una temperatura óptima de 72 °C) (36).

Gráfico 1. PCR Convencional



Fuente: Frontiers in Microbiology, 2022 (37,38)

Adaptado de: BioRender Team

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo General

Caracterizar *Enterobacterales* con betalactamasas de espectro extendido en infecciones urinarias de adultos mayores de la unidad de salud de Pelileo.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Evaluar el perfil de susceptibilidad antimicrobiana de *Enterobacterales* aisladas mediante técnicas fenotípicas manuales.
- Identificar los genes productores de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en *Enterobacterales* aisladas mediante métodos de biología molecular.

- Analizar la relación entre la presencia de cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido y los factores de riesgo asociados en infecciones del tracto urinario en adultos mayores.

1.4. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

H1: Existe una asociación entre la presencia de *Enterobacterales* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) aisladas de infecciones urinarias y factores de riesgo en adultos mayores atendidos en la Unidad de Salud de Pelileo.

H0: No existe una asociación entre la presencia de *Enterobacterales* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) aisladas de infecciones urinarias y los factores de riesgo en adultos mayores atendidos en la Unidad de Salud de Pelileo.

CAPITULO II

2.1 MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS

2.1.1. Humanos

Autor del trabajo de investigación: Guamanquispe Rojano Ana Elizabeth

Tutor del trabajo de investigación: BqCl. Mg. Jaramillo Ruales Evelyn Katherine

Población total: Pacientes adultos mayores que acudieron a la Unidad de salud de Pelileo

2.1.2. Institucionales

- **Laboratorios de Docencia de Microbiología, Biología Celular y Molecular** de la Facultad de Ciencias de la Salud de Universidad Técnica de Ambato.
- **Laboratorio de Investigación**, de la Facultad de Ciencias de la Salud de Universidad Técnica de Ambato.

2.1.3. Materiales, reactivos y equipos

MATERIALES	REACTIVOS	EQUIPOS
Caja de Guantes	Enzima Taq polimerasa en super master Mix, incluido buffer de carga para la electroforesis	Computador portátil
Hisopos de madera con punta de algodón	Safe VIEW CLASSIC.	Microscopios
Asas calibradas	Frasco Agar macconkey	Autoclaves
Puntas con filtro para micropipetas universales de 10 ul.	Frasco Agar Muller Hinton	Incubadoras
Puntas para micropipetas universales, con filtro de 100 ul.	Agar Citrato (CITRATO)	Refrigerador
Puntas con filtro para micropipetas universales de 1000 ul.	Agar hierro triple azúcar (TSI)	Microcentrífuga
Tubo de microcentrífuga de 1.5 mL.	Agar Lisina (LIA)	Vortex
Tubos PCR de 0,2 mL.	Agar H2S, indol, motilidad (SIM)	Cámara de flujo laminar
Tubos ependorf 1.5mL con tapa [500]	Aztreonam atm 30mcg (oxid)	Termociclador Bio-RAD T100
Caja bipetri	Cefoxitin fox 30mcg (oxid)	Cámara de Electroforesis
Caja monopetri	Ceftazidime / avibactam 30/20 mcg cza50 (oxid)	Fotodocumentador ChemiDoc Bio-Rad
Mascarilla	Ciprofloxacin cip 5mcg (oxid)	
Mechero	Gentamicin cn 10mcg (oxid)	
Fósforos	Fosfomycin/trometamol 200mcg (oxid)	
Hojas de papel bond	Nitrofurantoin f 300mcg (oxid)	
Rotulador	Ampicillin amp10 (oxid)	
Esferos	Meropenem 10mcg (oxid)	
Escala McFarland al 0.5	Cefotaxime ctx 30mcg (oxid)	
	Cefepime fep 30mcg (oxid)	
	Amoxycillin+acido clav. 30mcg (oxid)	
	Colistin sulphate 10mcg (oxid)	

2.2. MÉTODOS

2.2.1. Nivel o tipo de investigación

El estudio es observacional dado que se limitó a la recolección de datos microbiológicos y factores de riesgo, sin ninguna intervención sobre los pacientes que acuden a la unidad de salud. Adoptó un enfoque descriptivo porque se estableció la prevalencia de los aislamientos de *Enterobacteriales spp.* productores de BLEE, así como caracterizar su perfil de susceptibilidad, con un diseño transversal porque la recolección y el análisis de las variables se realizaron en un período de tiempo definido. Finalmente, se incluyó un componente relacional para determinar la asociación estadística entre la infección por cepas BLEE y los factores de riesgo.

2.2.2. Enfoque de la investigación

Desde el enfoque cualitativo, se aplicaron métodos de laboratorio que permitieron caracterizar microbiológicamente a los *Enterobacteriales spp.* productores de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Este abordaje se reflejó en la identificación fenotípica de las cepas mediante cultivo en agar MacConkey, pruebas bioquímicas, tinción de Gram, y posteriormente en el análisis genético por PCR convencional para la detección del gen BLEE.

Por otro lado, el enfoque cuantitativo permitió medir y analizar la frecuencia de *Enterobacteriales spp.* productores de BLEE en los pacientes que acuden a la Unidad de salud de Pelileo. Los datos obtenidos fueron organizados, codificados y procesados estadísticamente, lo que posibilitó establecer proporciones, tasas y patrones de distribución de la resistencia antimicrobiana. El análisis se realizó con el uso de herramientas estadísticas como el software IBM SPSS Statistics que facilitaron la interpretación gráfica y numérica de los datos microbiológicos y moleculares recolectados.

2.3 SELECCIÓN DEL ÁREA O ÁMBITO DE ESTUDIO

La investigación fue realizada durante el período académico agosto 2025 – enero 2026 de la Universidad Técnica de Ambato. El proyecto de investigación estuvo enfocado en los pacientes que acuden a la unidad de salud de Pelileo.

2.4 POBLACIÓN Y MUESTRA

La población de referencia estuvo constituida por todos los pacientes adultos mayores de ambos sexos que acudieron a la unidad de salud de Pelileo. Se estimó una población de aproximadamente ≈ 84 pacientes adultos mayores con sospecha de infección urinaria, según estadísticas proporcionadas por la unidad.

TAMAÑO MUESTRAL

Para calcular el tamaño muestral se utilizó la fórmula de población finita, con los siguientes datos:

$$n = \frac{N * Z^2 * p * q}{e^2 * (N - 1) + Z^2 * p * q}$$

Parámetros estadísticos:

- $N = 84$
- Nivel de confianza 95 % $\rightarrow Z = 1.96$
- Error máximo aceptado e (5%) = 0.05
- $p = 0.5$
- $q = 1 - p = 0.5$

CÁLCULO MUESTRAL:

$$n = \frac{84 * 0.9604}{0.05^2 * (83) + 0.9604} = \frac{80.6736}{1.1679}$$

$$n \approx 69.1$$

Por lo que el total de la muestra fue de aproximadamente 69 adultos mayores, siempre y cuando cumplieran los criterios de inclusión y exclusión.

2.5 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

2.5.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes adultos mayores (≥ 65 años) atendidos en la Unidad de Salud de Pelileo.
- Pacientes que hayan firmado el consentimiento informado.
- Muestras de orina correctamente recolectadas y procesadas.

2.5.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Pacientes que hayan recibido tratamiento antibiótico en las 48 horas previas a la toma de muestra.
- Pacientes con infecciones urinarias por microorganismos distintos a *Enterobacterales* spp.
- Demencia Senil Aguda Confusa
- Muestras de orina contaminadas con más de dos especies bacterianas o flora mixta en el cultivo.

2.6 VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

La operacionalización de las variables será descrita a detalle en el **Anexo 2**.

- **Variable dependiente:** Presencia de cepas de *Enterobacterales* spp. BLEE.
- **Variables independientes:**
 - Susceptibilidad Antimicrobiana.
 - Genes productores de BLEE en cepas de *Enterobacterales* spp.
 - Factores de riesgo.

2.7 DESCRIPCIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS

2.7.1. Consentimiento Informado

Se elaboró un documento titulado: “Consentimiento Informado para recolección, uso y almacenamiento de muestras biológicas y datos personales” (**Anexo 4**), con el objetivo de garantizar la confidencialidad de la información de los participantes en este proyecto de investigación. La participación fue completamente voluntaria, los datos recopilados se trataron de manera confidencial. En caso de que los resultados sean publicados en revistas médicas o presentados en congresos, la identidad de los participantes no será revelada.

2.7.2. Codificación de los pacientes

Fue elaborada una base de datos de los participantes involucrados en el estudio, donde se asignó una codificación alfanumérica para mantener el anonimato de los datos personales. La codificación incluyó las iniciales de los nombres y apellidos del participante y un número correspondiente.

Por ejemplo:

- **Ejemplo de codificación:** Adulto Mayor – Orden secuencial.
- **Formato:** AM-001

Nota: Esta codificación se utilizó para etiquetar las muestras recolectadas y para su procesamiento en el Laboratorios de Docencia de Microbiología, Biología Celular y Molecular y el Laboratorio de Investigación.

2.7.3. Protocolo toma de muestra

A todos los pacientes se les dio una guía de información sobre el procedimiento correcto para la obtención de la muestra de orina para minimizar la contaminación y asegurar la validez del urocultivo. La guía estuvo detallada con el siguiente protocolo:

Mujeres (Gráfico 2)

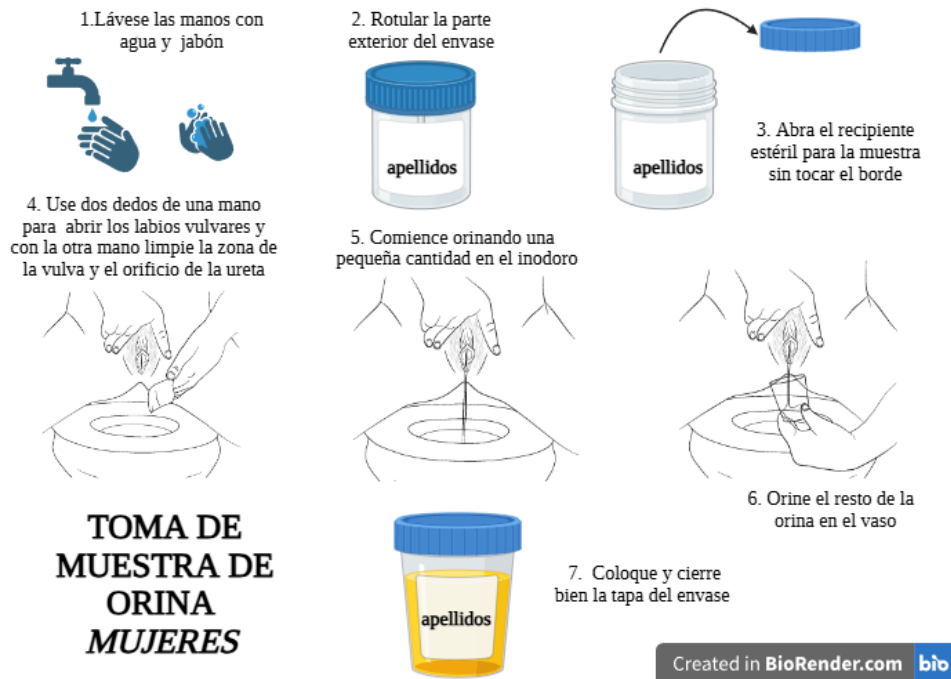
1. Correcto lavado de manos con agua y jabón.
2. Rotular la parte exterior del envase de recolección con la información personal.
3. Abra el recipiente estéril para la muestra sin tocar el borde, el interior del recipiente ni la superficie interior de la tapa del recipiente.
4. Con una mano separe el doblez de piel que circunda la abertura urinaria y manténgalo separado hasta que termine de tomar la muestra.
5. Comience a orinar en el excusado, separando los dobleces de la piel con sus dedos, cuando el flujo de orina sea constante y. sin interrumpirlo, coloque el recipiente estéril bajo el flujo para captar la orina
6. Recolecte la orina hasta que el recipiente esté medio lleno y entonces termine de orinar en el excusado (39).

Hombres (Gráfico 3)

1. Lávese las manos con agua y jabón.
2. Abra el recipiente estéril para la muestra sin tocar el borde, el interior del recipiente ni la superficie interior de la tapa del recipiente.
3. Repliegue el prepucio y comience a orinar en el excusado.
4. Cuando el flujo de orina sea constante y sin interrumpirlo, coloque el recipiente estéril bajo el flujo para captar la orina.
5. Recolecte la orina hasta que el recipiente esté medio lleno y entonces termine de orinar en el excusado (39).

El investigador rotuló y codificó las muestras de cada paciente de manera adecuada de acuerdo con el apartado “2.7.2 Codificación de los pacientes”.

Gráfico 2. Toma de muestra de orina – Mujeres



Fuente: Revista Científica Arbitrada Multidisciplinaria PENTACIENCIAS, 2023 (40).

Gráfico 3. Toma de muestra de orina – Hombres



Fuente: Revista Científica Arbitrada Multidisciplinaria PENTACIENCIAS, 2023 (40).

2.7.4. Procesamiento de muestras de orina (Examen microscópico y elemental de orina)

2.7.4.1. Análisis químico

- Se sumergió una tira reactiva en la muestra de orina, asegurando que todos los campos reactivos estén cubiertos.
- La tira se retiró inmediatamente y se eliminó el exceso de orina.
- Los resultados se leyeron destacando los parámetros clave para una ITU (Nitritos, Leucocitos, pH y Proteínas)

2.7.4.2. Examen microscópico del sedimento urinario

- En un tubo con una muestra de orina homogenizada se procedió a la centrifugación a 3000 revoluciones por minuto (rpm) durante 5 minutos.
- Tras la centrifugación, se decantó el sobrenadante.
- Se colocó una gota del sedimento resuspendido en un portaobjetos limpio y se le colocó un cubreobjetos.
- Se examinó en un microscopio óptico la presencia de leucocitos y bacterias.

2.7.5. Cultivo bacteriano

1. Se introdujo verticalmente un asa calibrada de (10 µL) estéril justo por debajo de la superficie de la orina, asegurando la toma de un volumen exacto.
2. Se procedió a sembrar mediante la técnica de agotamiento de estrías sobre la superficie del medio de cultivo.
3. Las placas se incubaron en la estufa a una temperatura de 35°C a 37°C por 18 a 24 horas.
4. Luego del período de incubación, se procedió al recuento de Unidades Formadoras de Colonias (UFC).

CÁLCULOS DE UFC

Se realizó el conteo de bacterias de la muestra en UFC/mL. Dado que se utilizó un asa calibrada de (10 µL), el factor de dilución es 100 (1/0.01).

La fórmula utilizada fue la siguiente:

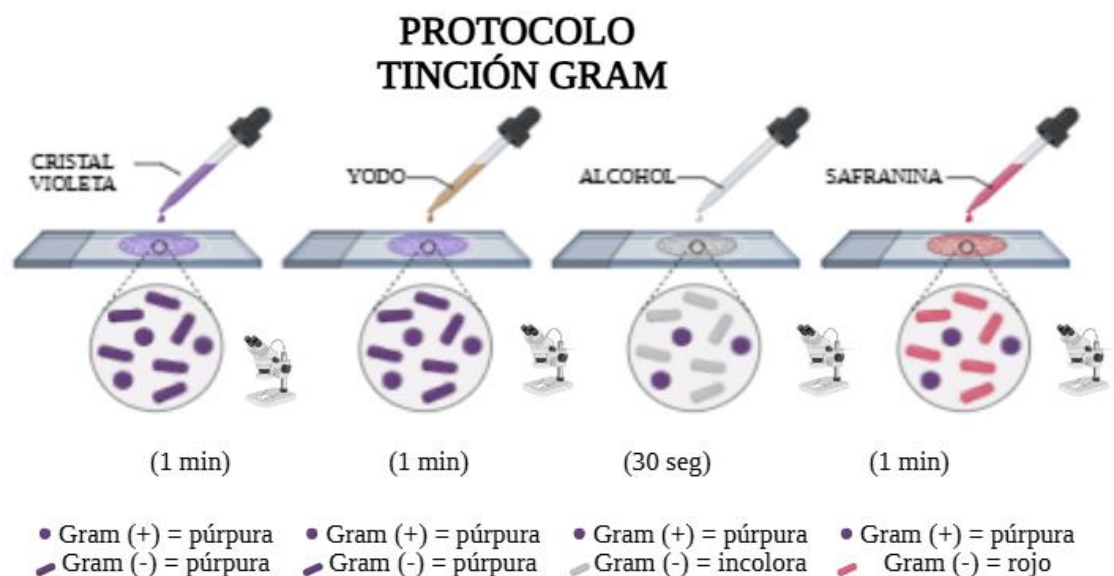
$$UFC/mL = (\text{Número de Colonias Contadas}) \times 100$$

Se consideró un urocultivo como positivo si el recuento de UFC/mL era ≥ 100000 UFC/mL.

2.7.6. Tinción GRAM de las muestras

- Se colocó las muestras en orden ascendente de acuerdo con el código único de cada paciente.
- Se tomó una gota de la muestra de orina con ayuda de un asa, la cual se colocó sobre el portaobjetos. Una vez que la placa estuvo completamente seca, se procedió a fijarla al calor por 3 veces seguidas.
- El procedimiento de la tinción fue el siguiente:
 - Cristal violeta por 1 minuto y lavar con agua.
 - Solución Lugol por 1 minuto y lavar con agua.
 - Alcohol cetona 30 segundos y lavar con agua.
 - Safranina 1 minuto y lavar con agua.
- Se dejó secar y se leyó con lente de 100X agregando una gota de aceite de inmersión.

Gráfico 4. Tinción GRAM



Created in BioRender.com

Fuente: Plataforma Abierta de Libros y Memorias Académicas - PALMA (2024) (41)

Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

2.7.7. Pruebas Bioquímicas

1. Se esterilizaron las asas microbiológicas pasándolas por el mechero (al rojo vivo) y se dejó enfriar.
2. Para la identificación de *Enterobacterales spp*, las colonias bacterianas fueron inoculadas en una serie de baterías bioquímicas:
 - **TSI:** Se utilizó el asa para picar el fondo del medio y luego estriar la superficie en declive, evaluando la fermentación de azúcares (glucosa, lactosa, sacarosa), la producción de gas y H₂S.
 - **LIA:** Se utilizó el asa para picar el fondo del medio y luego estriar la superficie en declive, evaluando la actividad de la Lisina Descarboxilasa (LD), actividad de la Lisina Desaminasa (LDA) y producción de sulfuro H₂S.
 - **CITRATO:** Se inoculó el medio por estriado solo en la superficie, evaluando la capacidad del microorganismo para utilizar el citrato como única fuente de carbono.
 - **UREA:** Se inculcó el medio para determinar la actividad de la enzima ureasa.
 - **SIM:** Se utilizó una aguja para picar el medio hasta el fondo, evaluando la producción de sulfuro H₂S la producción de indol (a partir del triptófano) y la movilidad del microorganismo.
 - **VP/RM:** Se inoculó el caldo, que posteriormente se utilizó para determinar si el microorganismo produce ácidos mixtos estables (RM) o acetoína (VP), dos rutas diferentes de fermentación de glucosa.
3. Finalmente, las baterías bioquímicas fueron incubadas por 24 horas a una temperatura de 37 °C.
4. La interpretación de cada batería bioquímica fue realizada de acuerdo con los requerimientos nutricionales del microorganismo en estudio.

2.7.8. Determinación de la Susceptibilidad a los antibióticos

1. A partir de las colonias aisladas se realizó una suspensión bacteriana con solución salina a una escala McFarland al 0.5.
2. Se inoculó la suspensión bacteriana en el Agar Müller Hinton mediante una siembra masiva con un hisopo estéril.
3. Se colocaron los discos de antibióticos a una distancia de 2cm con ayuda de una pinza estéril.

4. Se realizaron dos cajas por cada cepa identificada de la siguiente manera:

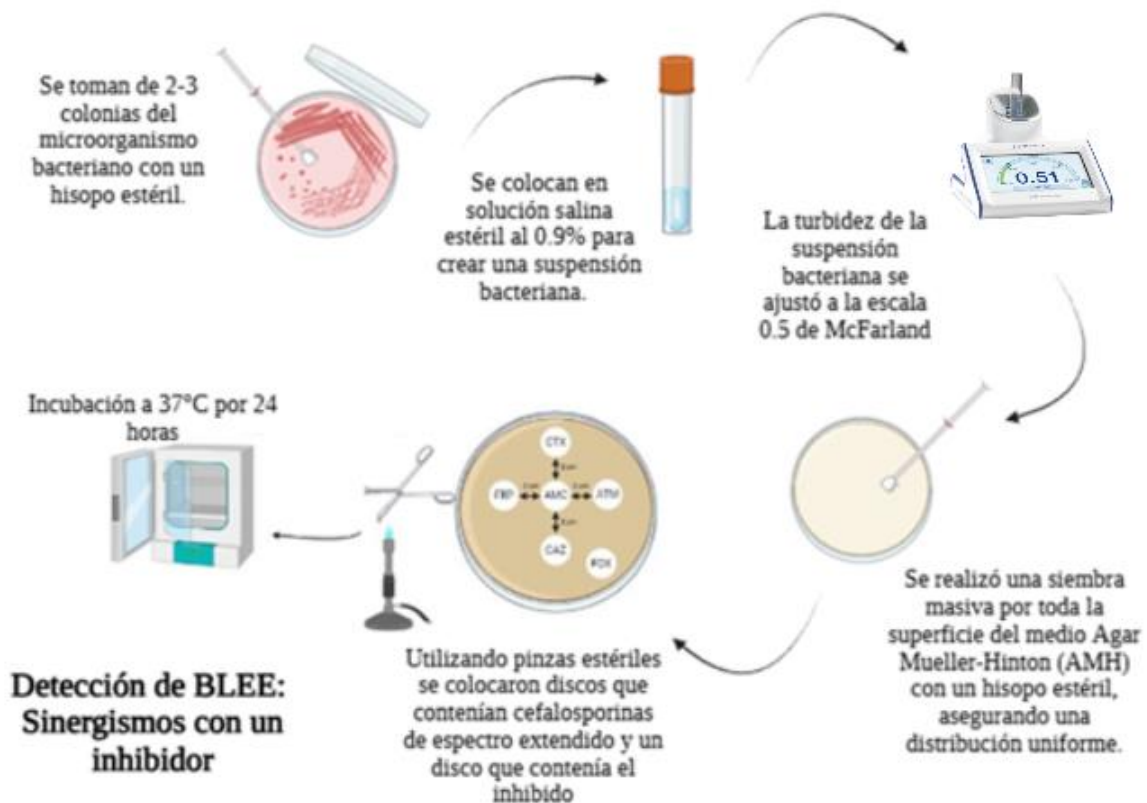
Caja 1

Detección de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE): Colocar discos de una aminopenicilina: Ampicilina (AMP) y otra combinada con un inhibidor de betalactamasas: Amoxicilina más Ácido Clavulánico (AMC) en el centro de la placa y alrededor añadir discos de cefalosporinas de tercera generación: Cefotaxima (CTX), Ceftazidima (CZA), cefalosporina de cuarta generación: Cefepime (FEP), un carbapenémico: Meropenem (MEM) y un monobactámico: Aztreonam (ATM) y Cefoxitin (FOX).

Caja 2

Usados para tratamiento de infecciones urinarias: Gentamicina (CN), Nitrofurantoina (F), Ciprofloxacina (CIP), Fosmonicina (FOT), Cefazolin (KZ).

Gráfico 5. Detección de BLEE



Created in BioRender.com bio

Fuente: Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (2011) (42).

2.7.9. Extracción de ADN

DILUCIÓN TAE 40X COMERCIAL

1. Se utilizó una solución TAE 40X comercial, a partir de la cual se prepararon 500mL de solución de trabajo para llegar a una concentración final TAE1X. Se debe tener en cuenta que se partió de una concentración solución madre TAE40X comercial, por lo que se calculó de la siguiente manera:

$$V1 * C1 = V2 * C2$$

$$V1 = \frac{V2 * C2}{C1}$$

$$V1 = \frac{1000mL * 1X}{40X}$$

$$V1 = 25mL$$

2. Se tomó 25 mL del volumen calculado de TAE 40X comercial y se aforó a 500 mL con agua destilada para llegar a una concentración final de TAE1X.
3. Se dispensó 400 µL de TAE 1X en tubos Eppendorf de 1.5 mL para la suspensión de extracción de ADN.

La solución TAE 1X fue usada para almacenar el material genético, estabilizar el pH de la solución y permitir la separación de los ácidos nucleicos. Además, para la extracción de ADN se empleó un método químico basado en la variación de temperaturas conocido como shock térmico, para lo cual se siguió el siguiente procedimiento:

SHOCK TÉRMICO

- Al iniciar el proceso las muestras fueron llevadas a vortex para una correcta homogenización.
- Se colocó las muestras de manera ordenada en el termobloque programado a una temperatura de 95°C durante 10 minutos.
- Una vez transcurrido el tiempo las muestras fueron sometidas a una temperatura de -20°C durante 20 minutos.
- Nuevamente, se colocaron las muestras en el termobloque ajustado a una temperatura de 95°C durante 10 minutos.
- Finalmente, las muestras se centrifugaron a 14 500 rpm durante 5 minutos.

Gráfico 6. Flujograma para extracción de ADN



Fuente: Educación química, (2019) (43).

2.7.10. Reacción en cadena de la polimerasa

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Se calculó la Master Mix de acuerdo con la siguiente tabla:

Tabla 1. Preparación de la Máster Mix

REACTIVOS	VOLUMEN	CONCENTRACIÓN FINAL
Agua	10 µL	N. A.
GoTaq	12 µL	1X
Primer Forward	1 µL	0.1 – 1.0 µM
Primer Reverse	1 µL	0.1 – 1.0 µM
ADN	1 µL	< 250 ng
Total	25 µL	

Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

PROTOCOLO DE PCR

El protocolo llevado a cabo para la amplificación del ADN se resume en la siguiente tabla:

Tabla 2. Temperatura/tiempo de la reacción para *blaCTX-M*

Desnaturalización inicial	Desnaturalización	Anillamiento	Elongación	Elongación final
94.0 °C (5 min)	94.0 °C (0,30 seg)	60.0 °C (1 min)	72.0 °C (1 min)	72.0 °C (7 min)

Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

Tabla 3. Temperatura/tiempo de la reacción para *bla-TEM*

Desnaturalización inicial	Desnaturalización	Anillamiento	Elongación	Elongación final	Referencia
94.0 °C (5 min)	94.0 °C (2 min)	54.0 °C (1 min)	72.0 °C (1 min)	72.0 °C (5 min)	Arce Z., et ar. 2014 (44)

Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

Tabla 4. Temperatura/tiempo de la reacción para *bla-SHV*

Desnaturalización inicial	Desnaturalización	Anillamiento	Elongación	Elongación final
94.0 °C (3 min)	94.0 °C (0,30 seg)	64.0 °C (0,30 seg)	72.0 °C (1 min)	72.0 °C (7 min)

Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

PREPARACIÓN DEL BUFFER TAE 1X Y EL GEL DE ELECTROFORESIS

1. Para la preparación del gel y corrida electroforética se preparó 1000 mL de solución de trabajo TAE 1X a partir de la solución madre TAE 40X, de la siguiente manera:

$$V1 * C1 = V2 * C2$$

$$V1 = \frac{V2 * C2}{C1}$$

$$V1 = \frac{1000ml * 1X}{40X}$$

$$V1 = 25ml$$

2. Se dispensó 25 mL de TAE 40X y aforó a 1000 mL con agua destilada.
3. Se prepararon dos geles de agarosa el primero con 0,9 gr. de agarosa de grado molecular en 60 mL de solución de trabajo TAE1X.

4. Se homogenizó la preparación y calentó en el microondas hasta obtener una solución transparente.
5. Se dejó enfriar la solución aproximadamente hasta 50 °C.
6. Se colocó 2 μ L de intercalante Syber Safe en el gel.
7. La preparación se colocó en el molde correspondiente.
8. De acuerdo con la ubicación de los peines el molde fue nivelado para la formación de los pocillos en el gel de electroforesis.

PREPARACIÓN DE LA CÁMARA Y CARGA DE MUESTRAS

1. Tras la solidificación, los topes y el peine fueron retirados con cuidado para evitar dañar los pocillos.
2. El gel fue transferido a la cámara de electroforesis, orientando los pocillos hacia el electrodo negativo.
3. La cámara fue llenada con 300 mL de tampón de electroforesis hasta cubrir completamente el gel.
4. Las muestras de ADN fueron brevemente centrifugadas para concentrar el contenido en el fondo de los microtubos.
5. Posteriormente, se cargaron aproximadamente 5 μ L de cada muestra en los respectivos pocillos utilizando micropipetas con puntas estériles.

ELECTROFORESIS

1. Se colocó la tapa de la cámara de electroforesis.
2. Se conectaron los cables de acuerdo con las cargas correspondientes (polo positivo-polo negativo).
3. Previamente fue configurada la fuente de poder a 60V durante 60 minutos.
4. Durante la electroforesis se vigiló el avance del colorante marcador, asegurando que permaneciera dentro del gel.
5. Al finalizar la corrida electroforética se desconectaron los cables y apagó la fuente de poder.
6. Para la identificación de los genes amplificados se colocó el gel en fotodocumentador ChemiDoc Bio-Rad para la visualización de las bandas de ADN.

2.7.11. Control de calidad

MEDIOS DE CULTIVOS

Para la validación de las pruebas realizadas se aplicó un sistema de control de calidad basado en el uso de cepas de referencia ATCC (American Type Culture Collection) que permitieron la valoración del rendimiento de los medios de cultivo usados.

Tabla 5. Control de calidad Agar MacConkey

Medio de cultivo	Código	Marca	Cepas control	Observaciones	Crecimiento bacteriano
Agar MacConkey	CM0115B	OXOID	<i>E. coli</i> ATCC 25922	Control negativo (cepa salvaje)	Inhibición del crecimiento bacteriano
Agar MacConkey	CM0115B	OXOID	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	Control positivo BLEE (blaSHV)	Crecimiento óptimo

Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA

Para la valoración del efecto de los discos de antibióticos, estos fueron colocados sobre una placa de Agar Müller Hinton con la cepa control *E. coli* 25922 (cepa salvaje).

Tabla 6. Control de calidad de los discos de antibióticos

Antibiótico	Marca	Halo de inhibición (mm)	Punto de corte QC (CLSI – M100)	Observaciones
Aztreonam	OXOID	32	28 – 36	Óptimo
Cefoxitina	OXOID	23	23 – 29	Óptimo
Cefazolina	OXOID	24	24 – 31	Óptimo
Ceftazidima	OXOID	28	25 – 32	Óptimo
Ciprofloxacina	OXOID	30	29 – 38	Óptimo
Gentamicina	OXOID	24	19 – 26	Óptimo
Fosfomicina	OXOID	22	22 – 30	Óptimo
Nitrofurantoina	OXOID	20	20 – 25	Óptimo
Ampicilina	OXOID	16	15 – 22	Óptimo
Meropenem	OXOID	30	28 – 35	Óptimo
Cefotaxima	OXOID	31	29 – 35	Óptimo
Cefepime	OXOID	32	31 – 37	Óptimo
Amoxicilina + Ácido clavulánico	OXOID	18	18 – 24	Óptimo
Colistina	OXOID	12	11 – 17	Óptimo

Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

Los aislamientos bacterianos fueron sometidos a un proceso de extracción de ADN por shock térmico (**Gráfico 28**), las muestras fueron medidas mediante espectrofotometría en el equipo Nanodrop (**Gráfico 29**), obteniendo concentraciones entre un rango de (99 – 343,9 ng/μL), previo al procedimiento de PCR para evaluar la viabilidad del material genético.

Tabla 7. Concentraciones de ADN de las muestras de *E. coli BLEE*

Nº	MUESTRAS	CONCENTRACIÓN DE ADN
1	AG-034	343,9 ng/μL
2	AG-037	166,8 ng/μL
3	AG-043	263,6 ng/μL
4	AG-049	99 ng/μL
5	AG-080	198,5 ng/μL

Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

Para la validación de la amplificación de los genes productores de BLEE se ocuparon como controles positivos ADN conocido de los genes: *bla_{CTX-M}*, *bla_{TEM}* y *bla_{SHV}* y un control negativo de la Master mix con agua de grado molecular en lugar de un ADN molde. Estos controles estuvieron dispuestos en los primeros pocillos del gel de electroforesis, después del marcador de peso molecular.

Tabla 8. Controles usados para el estudio molecular

Genes BLEE	Control positivo	Control negativo
<i>bla_{CTX-M}</i>	<i>E. coli</i> 216	<i>E. coli</i> 25922
<i>bla_{TEM}</i>	<i>E. coli</i> 216	<i>E. coli</i> 25922
<i>bla_{SHV}</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	<i>E. coli</i> 25922

Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

3.1.1. Análisis microbiológicos

Los resultados presentados a continuación reflejan el proceso integral de caracterización de la resistencia antimicrobiana en los aislamientos realizados a adultos mayores (≥ 65 años) que acudían a la Unidad de Salud de Pelileo, las cuales fueron procesadas en los Laboratorios de Docencia de Microbiología, Biología Celular y Molecular y el Laboratorio de investigación de la Universidad Técnica de Ambato.

Se analizó una población total de $n=80$ que cumplieron los criterios de inclusión y exclusión, de las cuales 32 cepas fueron de la familia *Enterobacterales spp.* obtenidas de los urocultivos de los pacientes durante el periodo de estudio.

La caracterización fenotípica y molecular se realizó en tres fases principales, la confirmación bacteriológica se realizó con la identificación de género y especie (*E. coli*, *Klebsiella spp.*, entre otros) mediante el urocultivo y la batería de pruebas bioquímicas (TSI, LIA, SIM, etc.), la detección de resistencia (BLEE) fue evaluada por la susceptibilidad antimicrobiana de amplio espectro mediante la difusión en disco (Kirby-Bauer) y se confirmó la producción de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) mediante la prueba de sinergismo con ácido clavulánico. Finalmente, se llevó a cabo la extracción de ADN, seguida de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) convencional para la detección de los genes de resistencia más prevalentes (*bla_{TEM}*, *bla_{CTX-M}*, *bla_{SHV}*).

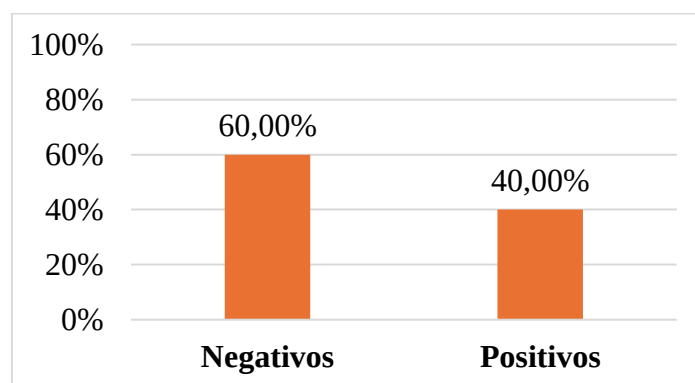
Del total de 80 pacientes adultos mayores se obtuvieron los siguientes datos:

Tabla 9. Prevalencia de infección del tracto urinario (ITU)

CRECIMIENTO	NÚMERO DE PACIENTES	PORCENTAJE
Negativos	48	60,0 %
Positivos	32	40,0 %
Total	80	100,0 %

Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

Gráfico 7. Prevalencia de Infección del Tracto Urinario (ITU)



Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

ANÁLISIS:

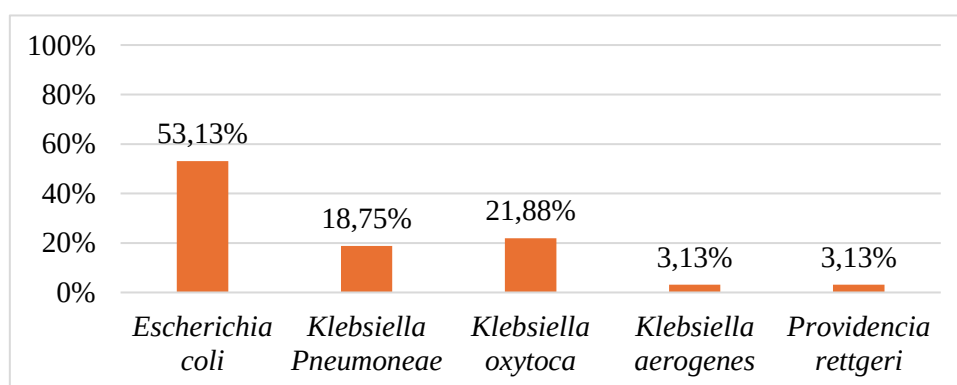
La frecuencia de urocultivos positivos en los pacientes adultos mayores con sospecha de ITU fue del 40% y de casos negativos fue del 60%.

Tabla 10. Frecuencia de Enterobacteriales spp. aislados.

FRECUENCIA	N° DE ENTEROBACTERIAS ENCONTRADAS	PORCENTAJE
<i>Escherichia coli</i>	17	53,13%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	18,75%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	7	21,88%
<i>Klebsiella aerogenes</i>	1	3,13%
<i>Providencia rettgeri</i>	1	3,13%
Total	32	100,0

Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

Gráfico 8. Porcentajes de Enterobacteriales spp. identificados



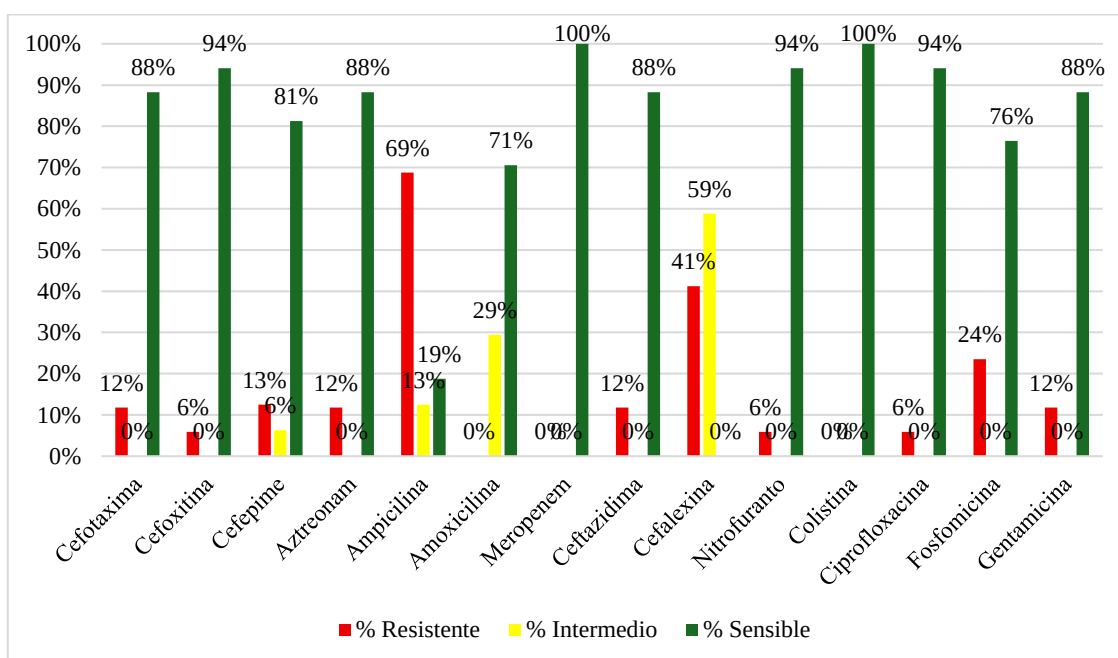
Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

ANÁLISIS:

De los 32 casos de urocultivo positivo, el que tuvo mayor predominancia fue de *Escherichia coli*, con 17 casos, representando el 53,13%; por otra parte, *Klebsiella oxytoca* se presenta como otro patógeno de interés en la población, representando el 21,88% debido a su capacidad de desarrollar mecanismos de resistencia antimicrobiana, seguido de *Klebsiella pneumoniae* 18,75%. Finalmente, otros *Enterobacteriales spp.* encontradas fueron *Klebsiella aerogenes* y *Providencia rettgeri* 3,13% respectivamente.

Dentro del perfil de susceptibilidad realizado a los 32 (40%) aislamientos positivos, se obtuvieron los siguientes resultados:

Gráfico 9. Perfil de susceptibilidad de *Escherichia coli*

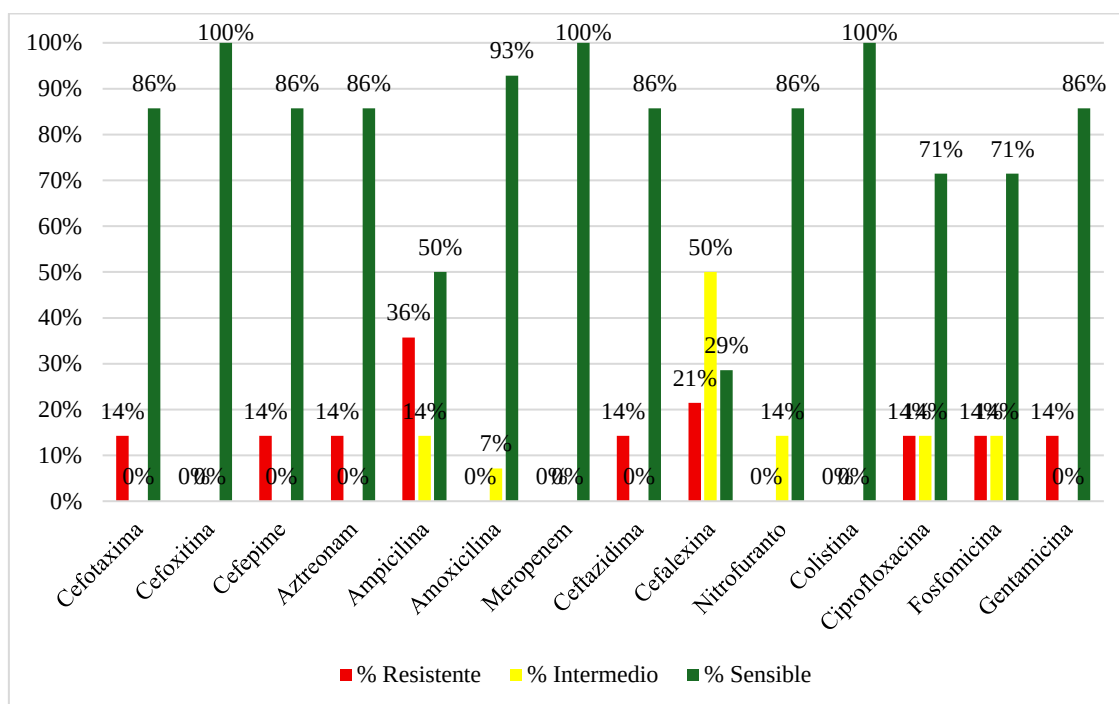


Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

ANÁLISIS:

El perfil de susceptibilidad de los 17 aislamientos de *E. coli* (**Gráfico 9**) muestra que los antibióticos más efectivos son meropenem, colistina y ciprofloxacina, que muestran una sensibilidad del 100%, seguidos por cefotaxima, cefoxitina, cefepima, aztreonam, ceftazidima, nitrofurantoína y gentamicina, los cuales presentan una sensibilidad mayor al 90%, lo que los convierte en opciones muy confiables. Por otra parte, la ampicilina es el antibiótico menos efectivo, con una resistencia del 60%, es importante destacar a la cefalexina, que no tiene cepas sensibles, sino que el mayor porcentaje de aislamientos cae en la categoría intermedio 60% y una resistencia del 40%.

Gráfico 10. Perfil de susceptibilidad de *Klebsiella* spp.



Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

ANÁLISIS:

El perfil de susceptibilidad de 14 aislamientos de *Klebsiella* spp. (**Gráfico 10**) demuestra una alta eficacia de varios antibióticos como son cefoxitina y meropenem, los cuales alcanzan el 100% de sensibilidad, así mismo a cefotaxima, cefepime, aztreonam, ceftazidima y gentamicina, con una sensibilidad mayor al 80%. Al igual que *E. coli* la ampicilina presenta una resistencia significativa del 40% y cefalexina con un 46% en la susceptibilidad intermedia.

A partir de los 32 (40%) aislamientos de *Enterobacteriales* spp. se realizaron antibiogramas y pruebas de sinergismos para asegurar la presencia de betalactamasas de espectro extendido, confirmando 5 *Enterobacteriales* spp. productoras de BLEE. Posteriormente, fueron caracterizados genotípicamente para identificar los principales genes productores de BLEE (*bla_{TEM}*, *bla_{CTX-M}*, *bla_{SHV}*).

Tabla 11. Perfil de susceptibilidad de *Escherichia coli* BLEE

Microorganismo	AG-037 <i>Escherichia coli</i>		AG-080 <i>Escherichia coli</i>	
Antibióticos	Halo de inhibición (mm)	Interpretación	Halo de inhibición (mm)	Interpretación
Cefotaxima	14	Resistente	20	Resistente
Cefoxitina	30	Sensible	20	Sensible
Cefepime	18	Resistente	16	Resistente
Aztreonam	17	Resistente	22	Resistente
Ampicilina	6	Resistente	12	Resistente
Amoxicilina + Ácido clavulánico	14	Intermedio	12	Sensible
Meropenem	32	Sensible	26	Sensible
Ceftazidima	20	Intermedio	18	Resistente
Cefalexina	6	Resistente	6	Resistente
Nitrofurantoina	20	Sensible	18	Sensible
Ciprofloxacina	8	Resistente	30	Intermedio
Fosfomicina	26	Sensible	18	Sensible
Gentamicina	6	Resistente	26	Sensible
Genes BLEE	bla _{CTX-M}		bla _{TEM} , bla _{CTX-M}	
Mecanismo de resistencia			BLEE	

Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

ANÁLISIS:

El antibiograma de *E. coli* (AG-037) revela una cepa multirresistente, lo que se manifiesta en la resistencia a casi todas las cefalosporinas de amplio espectro (cefotaxima, cefepima, aztreonam) y penicilinas. También tiene resistencia a la ciprofloxacina y gentamicina, aunque no son usados para el tratamiento de ITU. Cabe destacar que la cepa aún sigue siendo sensible a meropenem. Por otro lado, la cepa *E. coli* AG-080 tiene resistencia a las Cefalosporinas antes mencionadas, a ceftazidima y ampicilina. A pesar de esto, la cepa, a diferencia de la anterior, es sensible a gentamicina y ciprofloxacina; ambas cepas también fueron sensibles a antibióticos específicos para infecciones urinarias como nitrofurantoína y fosfomicina. Finalmente, se confirmó sus genes de resistencia, la cepa AG-037 presentó solo el gen BLEE bla_{CTX-M}, mientras que AG-080 tuvo dos genes BLEE: bla_{TEM} y bla_{CTX-M}.

Tabla 12. Perfil de susceptibilidad de *Klebsiella* spp. BLEE

Microorganismo	AG-034 <i>Klebsiella pneumoniae</i>		AG-049 <i>Klebsiella oxytoca</i>	
	Halo de inhibición (mm)	Interpretación	Halo de inhibición (mm)	Interpretación
Cefotaxima	24	Resistente	24	Resistente
Cefoxitina	20	Sensible	22	Sensible
Cefepime	18	Resistente	18	Resistente
Aztreonam	16	Resistente	14	Resistente
Ampicilina	8	Resistente	6	Resistente
Amoxicilina + Ácido clavulánico	18	Sensible	20	Sensible
Meropenem	30	Sensible	32	Sensible
Ceftazidima	19	Resistente	14	Resistente
Cefalexina	12	Resistente	18	Resistente
Nitrofurantoina	16	Sensible	18	Sensible
Ciprofloxacina	26	Sensible	22	Intermedio
Fosfomicina	14	Intermedio	30	Sensible
Gentamicina	26	Sensible	22	Sensible
Genes BLEE	bla _{TEM} , bla _{CTX-M}			
Mecanismo de resistencia		BLEE		

Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

ANÁLISIS:

El análisis entre las dos cepas de *Klebsiella oxytoca* (AG-034 y AG-049) muestra un patrón de resistencia consistente a la mayoría de las Cefalosporinas de amplio espectro (cefotaxima, cefepime, ceftazidima) y al aztreonam. Ambos aislamientos son sensibles a meropenem, cefoxitina y gentamicina. La diferencia entre ellas radica en su susceptibilidad a otros antibióticos: el aislamiento AG-034 es más sensible a ampicilina y ciprofloxacina, pero muestra una respuesta intermedia a fosfomicina, mientras que el aislamiento AG-049 es resistente a la ampicilina y muestra una respuesta intermedia a ciprofloxacina, pero es sensible a la fosfomicina. Finalmente, las dos presentaron los genes BLEE: bla_{TEM}, bla_{CTX-M}.

Tabla 13. Perfil de susceptibilidad de *Providencia rettgeri* BLEE

AG-043 <i>Providencia rettgeri</i>		
Microorganismo		
Antibióticos	Halo de inhibición (mm)	Interpretación
Cefotaxima	32	Sensible
Cefoxitina	14	Resistente
Cefepime	26	Sensible
Aztreonam	32	Sensible
Ampicilina	6	Resistente
Amoxicilina + Ácido clavulánico	12	Resistente
Meropenem	26	Sensible
Ceftazidima	28	Sensible
Cefalexina	19	Resistente
Nitrofurantoina	6	Resistente
Ciprofloxacina	6	Resistente
Fosfomicina	24	Sensible
Gentamicina	24	Sensible
Genes BLEE	<i>bla_{CTX-M}</i> <i>bla_{TEM}</i>	
Mecanismo de resistencia	BLEE	

Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

ANÁLISIS:

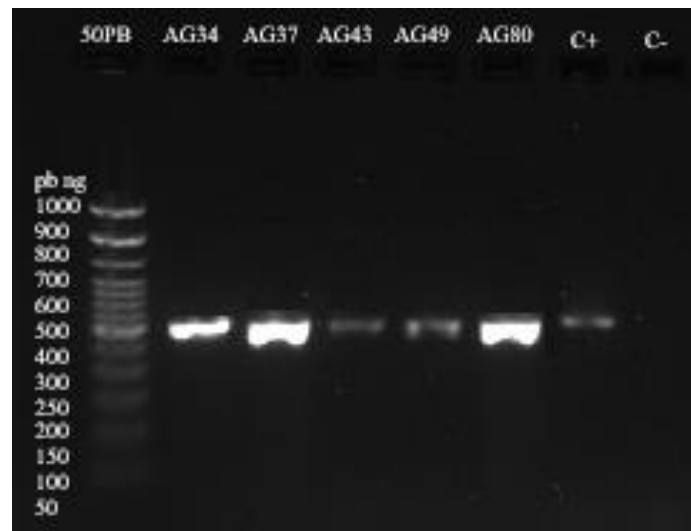
El antibiograma de *Providencia rettgeri* (AG-043) tiene resistencia a ciprofloxacina, gentamicina y nitrofurantoína. No obstante, sigue siendo sensible a meropenem, cefepime, aztreonam, ceftazidima y fosfomicina, esta última siendo la principal alternativa oral para el manejo de infecciones del tracto urinario. Finalmente, los genes BLEE caracterizados en esta cepa fueron *bla_{CTX-M}* y *bla_{TEM}*.

3.1.2. Análisis Molecular

Una vez evaluada la concentración del ADN, las muestras fueron amplificadas mediante la reacción en cadena de la polimerasa convencional (PCR) para identificar la presencia de los principales genes productores de BLEE: *bla_{CTX-M}*, *bla_{TEM}* y *bla_{SHV}*. Los amplicones de la PCR fueron sometidos a un proceso de revelado mediante electroforesis, para cada gen se valoraron las bandas amplificadas de acuerdo con el peso molecular de los

controles positivos y su relación, las cuales se detallan a continuación en las gráficas por cada gen analizado:

Gráfico 11. Electroforesis del gen *bla_{CTX-M}*

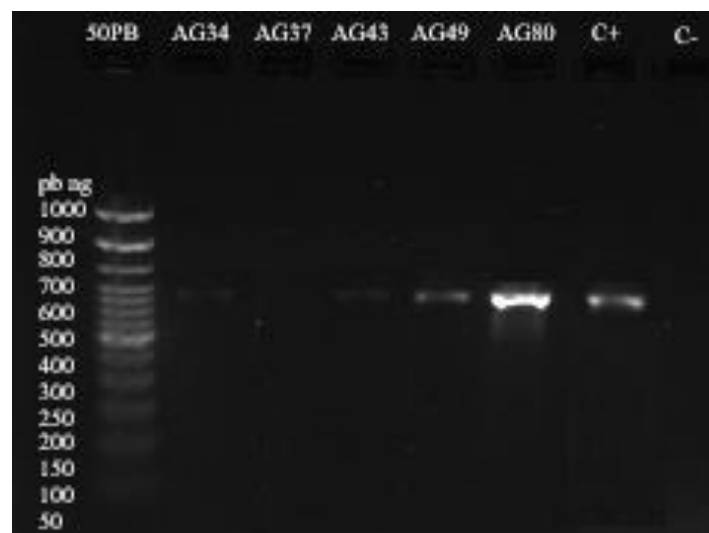


Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

ANÁLISIS:

Todas las cepas analizadas (AG-034, AG-037, AG-043, AG-049 y AG-080) son positivas para el gen *bla_{CTX-M}*.

Gráfico 12. Electroforesis del gen *bla_{TEM}*

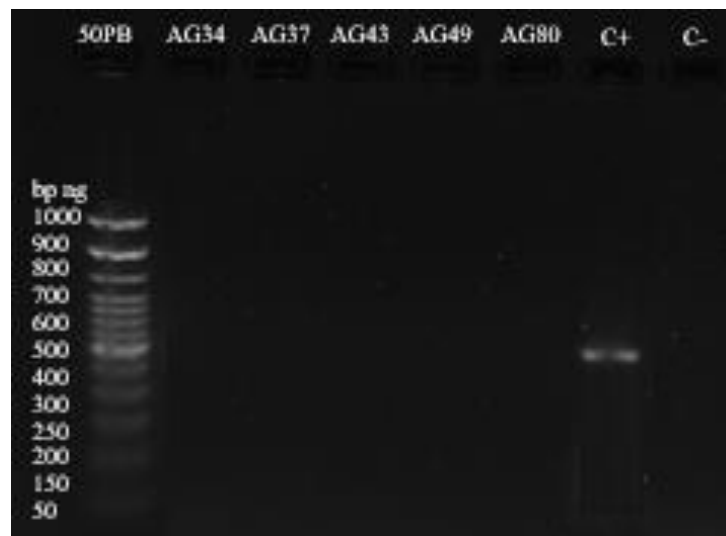


Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

ANÁLISIS:

Las cepas analizadas (AG-034, AG-043, AG-049 y AG-080) son positivas para el gen *bla_{TEM}* a excepción de la cepa AG-037 la cual no presenta este gen.

Gráfico 13. Electroforesis del gen *bla_{SHV}*

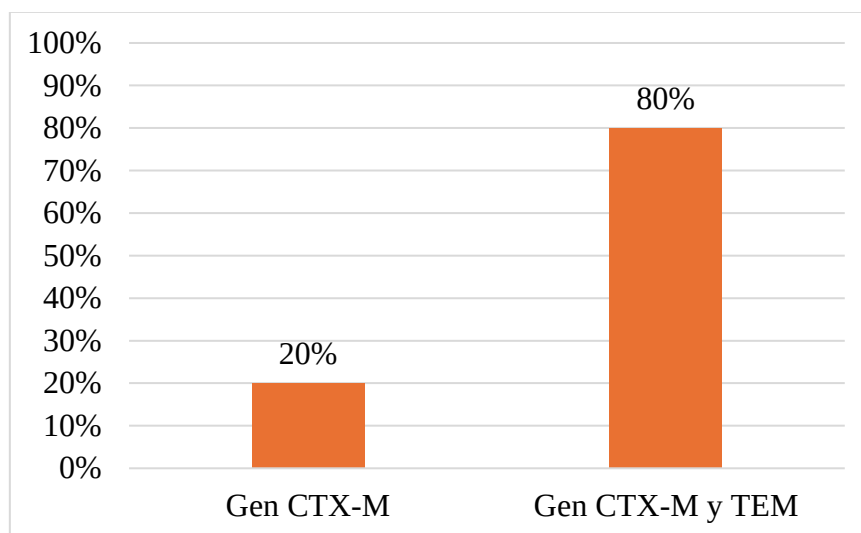


Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

ANÁLISIS:

Ninguna de las cepas analizadas (AG-034, AG-037, AG-043, AG-049 y AG-080) son positivas para el gen *bla_{SHV}*.

Gráfico 14. Reporte de genes productores de BLEE



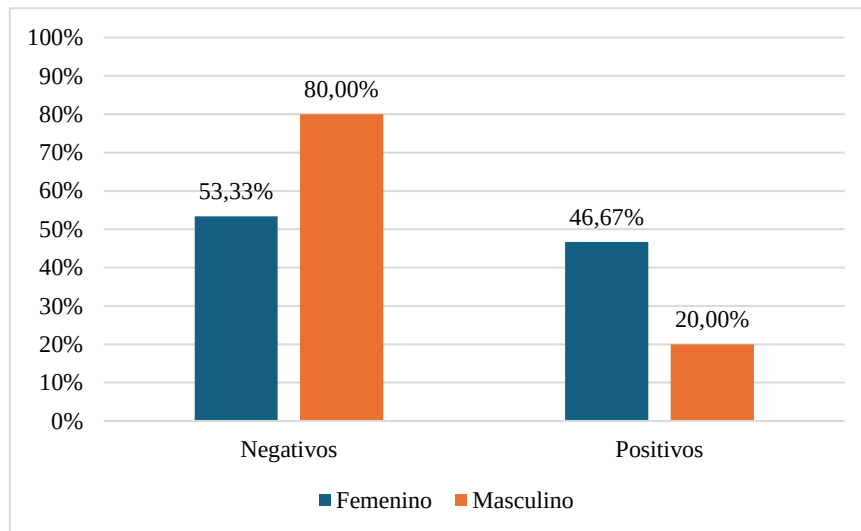
Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

ANÁLISIS:

De los 5 aislamientos de *Enterobacteriales* spp. BLEE, el 20% presenta el gen *bla_{CTX-M}* y el otro 80% registra la presencia de más de un gen en su composición genética correspondiente a la combinación de genes *bla_{CTX-M}* y *bla_{TEM}*.

3.1.3. Análisis de los factores de riesgo asociados a infecciones del tracto urinario.

Gráfico 15. Asociación del género con el resultado del urocultivo

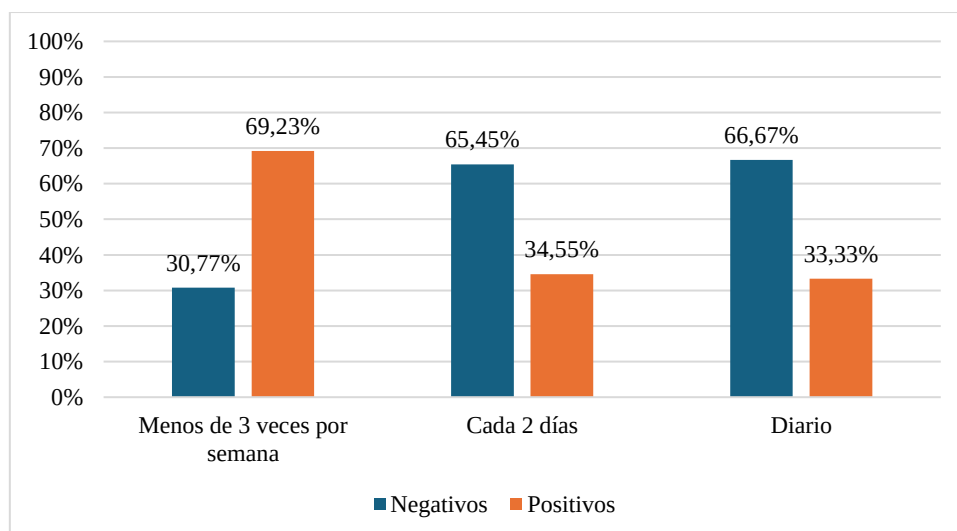


Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

ANÁLISIS:

El análisis entre el género de la población y el resultado del urocultivo muestra una relación en la muestra estudiada N=80, llegando a la conclusión de que el 46,67% de los pacientes femeninos presentaron un urocultivo positivo mientras que en pacientes masculinos fue de solo el 20%. Esta diferencia entre mayor número de casos positivos para femeninos pudo haber sido porque hubo mayor cantidad en las muestras recolectadas.

Gráfico 16. Asociación entre la frecuencia de la higiene personal y el urocultivo

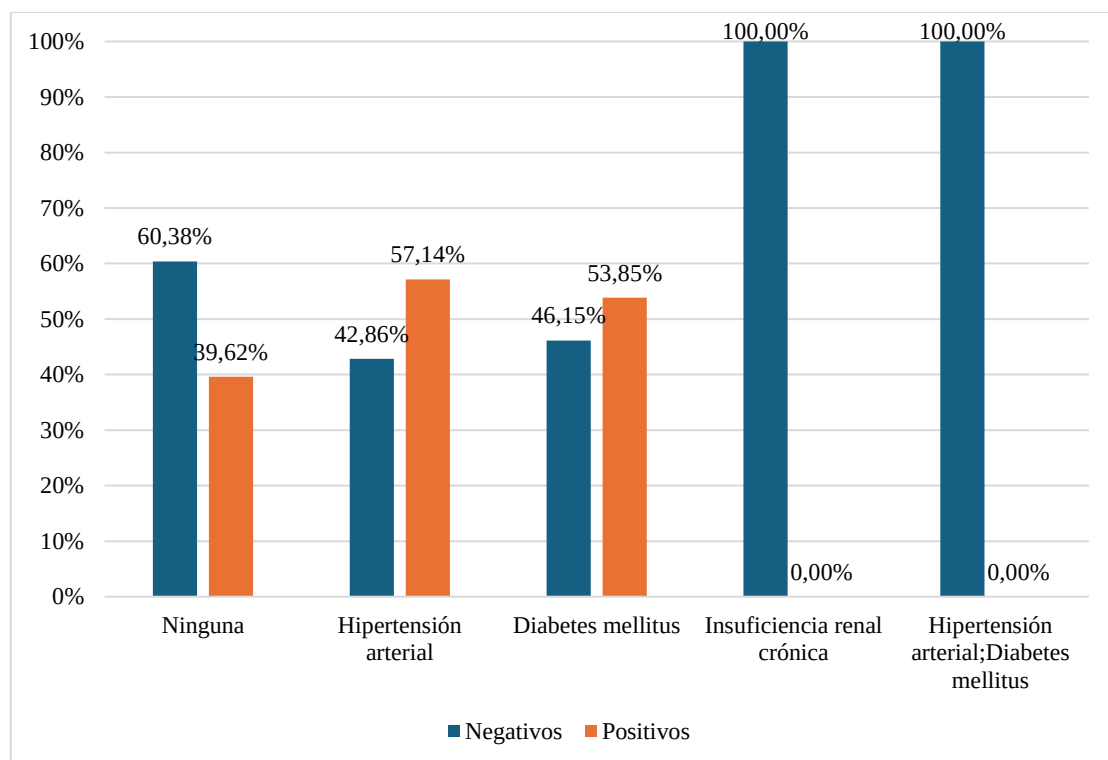


Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

ANÁLISIS:

En la relación de la frecuencia de higiene personal y los resultados del urocultivo, se observa que el grupo con menor higiene corporal (*menos de 3 veces por semana*) presentó la mayor proporción de resultados positivos 69,23%, quienes lo realizan cada 2 días muestran un porcentaje 34,55% y finalmente quienes realizan su higiene diaria presentan la proporción más baja de infección de 33,33% de los 32 casos de urocultivo positivo.

Gráfico 17. Asociación entre la frecuencia de enfermedades crónicas con los resultados del urocultivo

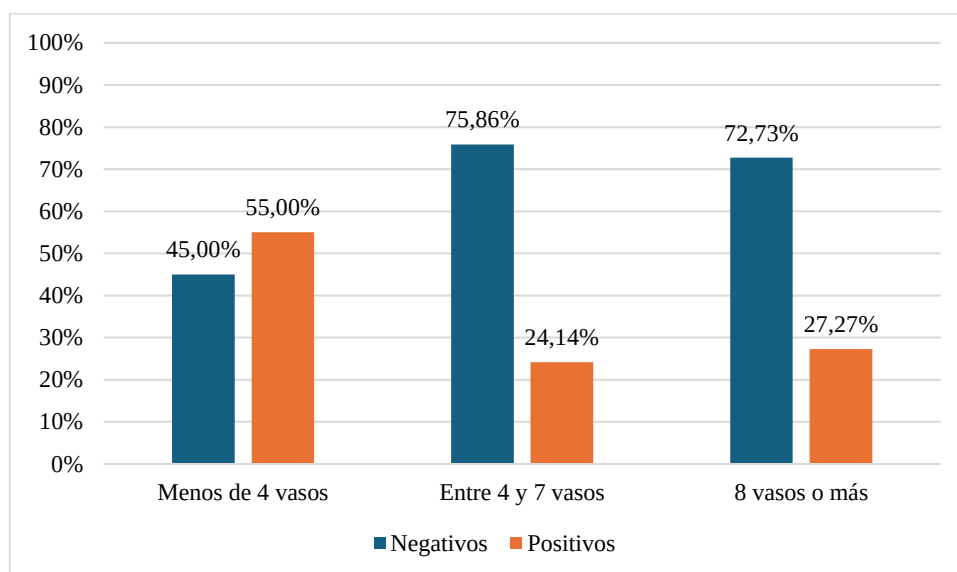


Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

ANÁLISIS:

La relación que tuvo la presencia de otras enfermedades crónicas y el resultado del urocultivo muestra que los pacientes con diabetes mellitus hipertensión arterial pueden presentar la mayor proporción de resultados positivos.

Gráfico 18. Asociación entre el nivel de la hidratación y los resultados del urocultivo

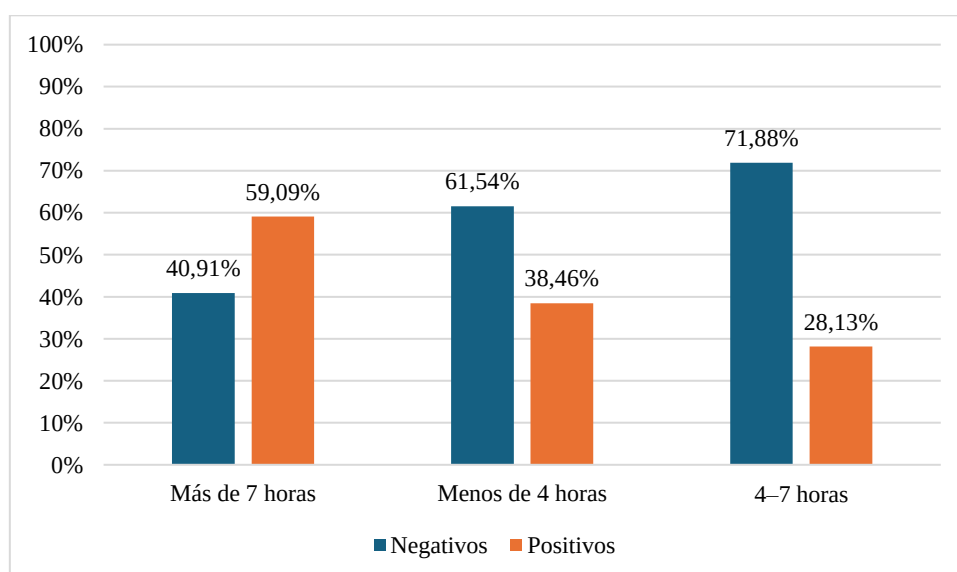


Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

ANÁLISIS:

El consumo reducido de agua muestra una clara asociación con mayor positividad de los urocultivos positivos, como se observa los participantes que consumen menos de 4 vasos diarios presentan la mayor proporción de resultados positivos 55%, a medida que el consumo de agua aumenta, la frecuencia de resultados positivos disminuye notablemente, quienes consumen entre 4–7 vasos presentan 24,14% de positividad y quienes ingieren 8 o más vasos muestran la proporción más baja 27,27%.

Gráfico 19. Asociación entre el sedentarismo y los resultados del urocultivo

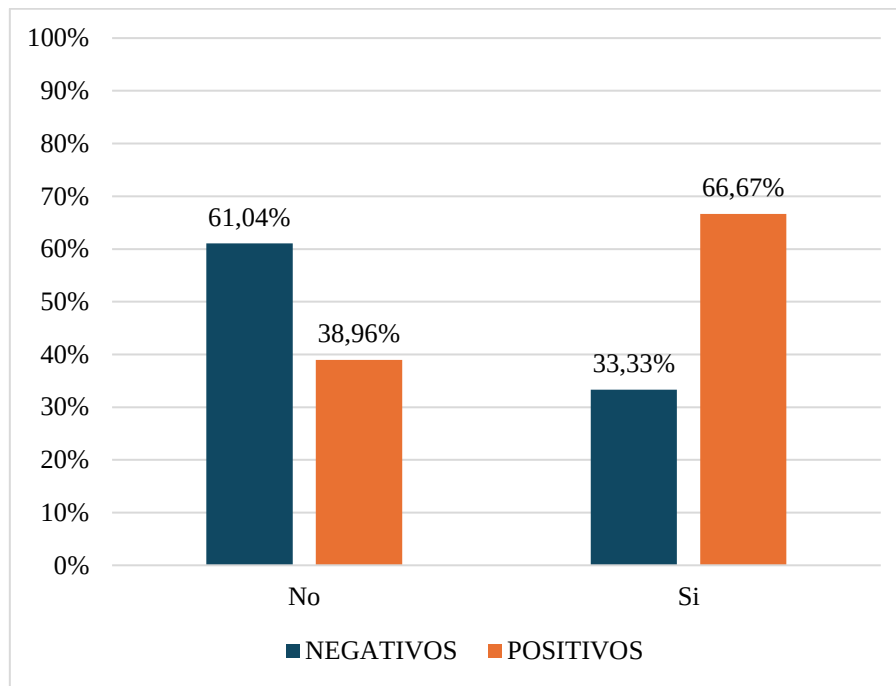


Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

ANÁLISIS:

Se observa que el tiempo prolongado sentados se relaciona con una mayor proporción de resultados positivos, el grupo que permanece más de 7 horas sentado presenta 59,09% de positividad de urocultivos positivos, los pacientes quienes permanecen menos de 4 horas y entre 4 y 7 horas muestran proporciones menores 38,46% y 28,13% respectivamente.

Gráfico 20. Asociación entre los pacientes hospitalizados y los resultados del urocultivo.



Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

ANÁLISIS:

La mayoría de los pacientes no ha estado hospitalizada, lo que demuestra proporciones similares de positividad entre ambos grupos: 38,96% en quienes no han sido hospitalizados y 66,67% entre los que si han estado hospitalizados.

3.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS FACTORES DE RIESGO Y LA PRESENCIA DE ITU

Tabla 14. Análisis estadístico con la prueba de chi-cuadrado

Relación de factores de riesgo con ITU	Valor	Chi-cuadrado		
		Grado de libertad	Nivel de confianza	Significancia
Género	18,00	1	95%	0,000
¿Presenta alguna enfermedad crónica?	15,438	2	95%	0,000
¿Con qué frecuencia realiza higiene personal?	10,938	2	95%	0,004
¿Cuántos vasos de agua consume al día?	18,813	2	95%	0,000
¿Cuántas horas permanece sentado al día?	0,813	2	95%	0,666
¿Ha estado hospitalizado?	24,500	1	95%	0,000

Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

El análisis estadístico mediante la prueba de Chi-Cuadrado en la población de estudio $n=80$ muestra que la mayoría de los factores de riesgo evaluados presentan una asociación significativa con la presencia de ITU positiva ($p < 0.05$), los factores como el género, presencia de enfermedades crónicas, hidratación y hospitalización ($p=0,00$) son predictores estadísticamente fuertes para el desarrollo de la infección, de igual forma la higiene personal también mostró una asociación significativa, aunque con un margen menor ($p=0.004$), el único factor que no presentó una asociación estadísticamente significativa con la ITU fue el sedentarismo, ($p=0.666$). Se llegó a la conclusión, de que la presencia de ITU en adultos mayores que acuden a la Unidad de salud de Pelileo está fuertemente determinada por una combinación de factores de riesgo como lo son el género, enfermedades crónicas y factores de autocuidado como la hidratación e higiene.

3.3 ASOCIACIÓN DE LOS FACTORES DE RIESGO CON BLEE

Tabla 15. Frecuencia entre el género y la asociación BLEE

GÉNERO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Femenino	4	80 %
Masculino	1	20 %
Total	5	100 %

Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

ANÁLISIS: La relación que existe entre el género y la presencia de BLEE se da mayormente en pacientes femeninos, cabe resaltar que este género era el que más predominaba en la muestra teniendo un 80% de cepas aisladas que presentaron esta resistencia.

Tabla 16. Frecuencia entre enfermedades relacionadas con BLEE

ENFERMEDAD	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Ninguna	3	60,0 %
Diabetes mellitus	2	40,0 %
Total	5	100,0 %

Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

ANÁLISIS:

Aunque el 60% de los pacientes que no tuvieran ninguna enfermedad presentaron este gen de resistencia, existe un 40% de los pacientes que tuvieran una asociación hoy con diabetes mellitus.

Tabla 17. Frecuencia entre la higiene personal relacionada con BLEE

HIGIENE PERSONAL	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Menos de 3 veces por	4	80,0 %
Cada 2 días	1	20,0 %
Total	5	100,0 %

Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

ANÁLISIS:

El 80% de los pacientes que tuvieron el gen de resistencia su higiene personal la realiza menos de 3 veces por semana y un 20% la realiza cada 2 días.

Tabla 18. Frecuencia entre la hidratación y la presencia de BLEE

HIDRATACIÓN	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Menos de 4 vasos	5	100,0 %

Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

ANÁLISIS

El 100% de la muestra consume menos de 4 vasos de agua diaria llegando a ser el factor predominante para generar resistencia.

Tabla 19. Frecuencia entre el sedentarismo y la presencia de BLEE

SEDENTARISMO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Más de 7 horas	5	100,0 %

Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

ANÁLISIS:

El sedentarismo en la población muestra un 100% al permanecer sentados más de 7 horas diarias, lo que conlleva a presentar esta resistencia.

Tabla 20. Frecuencia entre la hospitalización y la presencia de BLEE

HOSPITALIZACIÓN	FRECUENCIA	PORCENTAJE
No	4	80,0 %
Si	1	20,0 %
Total	5	100,0 %

Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

ANÁLISIS:

Aunque el 80% de los participantes que presentaron esta resistencia no estuvieron hospitalizados, un 20% sí lo estuvo.

3.4 VALIDACIÓN DE LA HIPÓTESIS

Tabla 21. Análisis estadístico con la prueba del chi-cuadrado para la validación de hipótesis

Relación de factores de riesgo con BLEE	Chi-cuadrado			
	Valor	Grado de libertad	Nivel de confianza	Significancia
Género	1,800	1	95%	0,180
¿Presenta alguna enfermedad crónica?	0,200	1	95%	0,655
¿Con qué frecuencia realiza higiene personal?	1,800	1	95%	0,180
¿Ha estado hospitalizado?	1,800	1	95%	0,180

ANÁLISIS

Se realizó el análisis de Chi-cuadrado el cual indica que no se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de *Enterobacterales spp.* productoras de BLEE y los factores de riesgo evaluados en los adultos mayores atendidos en la Unidad de Salud de Pelileo. Por lo tanto, se acepta la Hipótesis Nula (**H0**) de que no existe una asociación entre la presencia de BLEE y los factores de riesgo estudiados con un nivel de confianza del 95%.

3.5 DISCUSIÓN

En la presente investigación, se obtuvo un total de 80 pacientes de los cuales el 40% tuvieron un crecimiento positivo obteniendo un número total de 32 aislamientos, con un conteo $\geq 100\,000$ UFC/mL de orina, de pacientes ≥ 65 años que acudieron a la Unidad de Salud de Pelileo, con una posible infección del tracto urinario, del sexo masculino y femenino.

Son múltiples los factores que intervienen en el desarrollo de una infección del tracto urinario el sexo, la presencia de alguna otra enfermedad, el mal aseo personal y la hospitalización demostraron ser los factores principales en nuestra investigación. Según Rodríguez en su investigación existe la prevalencia de cepas multirresistentes productoras

de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) causadas principalmente por las depresiones inmunológicas que presenta esta población de muestra (10), así mismo varios autores han proporcionado en sus investigaciones que *Escherichia coli* es la *Enterobacteria* que está presente en gran medida en estas infecciones, como se puede observar en la **Tabla 11** esta se manifestó en el 53,13% de los casos aislados, seguido de *K. oxytoca* representó el 21,88% (7/32), *K. pneumoniae* el 18,75% (6/32) y *K. aerogenes* 3,13% (1/32). Finalmente, otra *Enterobacteria* encontrada fue *Providencia rettgeri* con un 3,1% (1/32) de los casos encontrados, se ha demostrado que esta *Enterobacteria* afecta a pacientes con incontinencia urinaria e inactividad física, en esta investigación el paciente además de estos factores de riesgo presentaba diabetes mellitus (45).

Por ello, de acuerdo a los datos obtenidos en este estudio y con los obtenidos para sustentar este trabajo de investigación, se coincide que *Escherichia coli* es el principal responsable en generar una ITU, la cual destaca en pacientes femeninos, este resultado corresponde a varias literaturas donde menciona que debido a la anatomía de una mujer donde a uretra femenina corta (aproximadamente 4 cm) y su proximidad al ano facilitan la migración de bacterias entéricas a la vejiga teniendo mayor incidencia a generar infecciones (27). Además, otra clase de factores que se pudo evidenciar en el estudio es la deshidratación en el estudio realizado por Silva et. Al. En Brasil resalta que el bajo consumo de agua no permite una micción frecuente limitando el flujo de las bacterias hacia el exterior, en base a nuestros resultados se vio que el 59,09% de los participantes que respondieron a inactividades físicas por un tiempo mayor a 7 horas diarias tuvieron colonizaciones de bacterias y por ende presentaron una ITU (16).

Al analizar el perfil de susceptibilidad de la investigación arrojó que, para los 17 aislados de *Escherichia coli*, la sensibilidad a las cefalosporinas de tercera generación (cefotaxima, ceftazidima) y al aztreonam alcanzó el (93,5%), lo cual indica que la resistencia a BLEE es baja en este grupo, al igual que a los carbapenémicos que mantienen una efectividad del 100%, y a la nitrofurantoína, con un 93,75% de sensibilidad. En una investigación realizada en España, Artero et al. como resultado obtuvieron que el microorganismo en mayor frecuencia fue *Escherichia coli*, presentando una sensibilidad mayor al 90% para cefalosporinas de tercera generación y 96% para nitrofurantoína y fosfomicina. Es así como, en nuestro estudio, la sensibilidad para cefalosporinas de tercera generación y nitrofurantoína se asemejan con la observada en el estudio español, el cual apoya que estos agentes siguen siendo efectivos en la mayoría de los casos, a pesar

de estas similitudes, se observa una diferencia significativa con fosfomicina, en nuestro estudio presenta una sensibilidad del 75% frente al 96% del estudio de Artero (46).

Zarnowski et al. Mencionan que los antibióticos de primera elección para tratar estas ITU son nitrofurantoína y trimetoprim-sulfametoxazol, de acuerdo con la alta sensibilidad local evidenciada para nitrofurantoína 93,75% y fosfomicina 75,0%, se refuerza que estos agentes sigan siendo fármacos de elección para el tratamiento empírico de ITU no complicadas a nivel local en Pelileo, siempre y cuando se tenga en cuenta el 25% de resistencia que presentó la población a la fosfomicina (47).

En la investigación realizada por Serretiello et al. (2021) en Italia, establece una diferencia clave en el patrón de multirresistencia en su centro de salud, donde la resistencia a ciprofloxacina tuvo 31,4% de resistencia y la producción de BLEE alcanzo un 17, 6%, mientras que de los 17 aislados de *Escherichia coli*, nuestros datos arrojaron una resistencia del 0% a ciprofloxacina y solo el 6,25% a las cefalosporinas. No obstante, la resistencia a ampicilina sigue siendo alta en ambas poblaciones, con 62,5% de resistencia en nuestras cepas aisladas, superando ligeramente el rango de 48% a 55,2% reportado en Italia (17).

El estudio en Cuenca por Loja Guamán & Ortiz Tejedor (2025), realizado en un laboratorio de alta complejidad analizó 395 urocultivos positivos y encontró que la resistencia tipo BLEE en *E. coli* era del 12,41%, siendo estas el doble de la resistencia a cefalosporinas de tercera generación que encontramos en Pelileo 6,25%, el cual se correlaciona con el hecho de que nuestra unidad de salud es de atención primaria. Por otro lado, en cuanto a los antibióticos de primera generación, la resistencia a ampicilina 62,5% en nuestros aislados es semejante con la observada en Cuenca, reforzando la ineficacia de este fármaco en el tratamiento empírico de ITU comunitarias a nivel nacional. Finalmente, la alta sensibilidad que encontramos en Pelileo para nitrofurantoína 93,75% apoya la recomendación de usar estos fármacos como primera línea, aunque nuestras cepas aisladas fueron sensibles a gentamicina este no es muy usado para infecciones del tracto urinario, pero es mejor que amikacina (9).

En nuestra investigación, con respecto a *Klebsiella* spp. se encontró un 7,69% de resistencia a ciprofloxacina y de 15,38% a fosfomicina, comparándolo con un estudio realizado en Santa Elena por Carriel y Ortiz (2021) reportan un 0% de resistencia para cefotaxima, ciprofloxacina y fosfomicina. Esta variación en los datos subraya que, en tan

solo unos años las cepas de *Klebsiella* spp. en nuestra área han adquirido resistencia a antibióticos clave como lo son las cefalosporinas de tercera generación, quinolonas y fosfomicina que antes eran 100% efectivos. Finalmente, en ambas investigaciones cabe resaltar que no hubo resistencia a meropenem siendo este un antibiótico de elección para nuestra localización (4).

En esta investigación de los 32 aislamientos positivos para infección del tracto urinario, el 15,63% (5/32) fueron productoras de betalactamasas, de los cuales el 6,25% (2/32) representa a *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp. BLEE y el 3,13% (1/32) a *Providencia rettgeri* BLEE. Es así como, de las cepas BLEE se obtuvo que en los casos de *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. y *Providencia rettgeri* BLEE estaban presentes los genes *bla_{CTX-M}* y *bla_{TEM}*, mientras que para el caso de cepa AG-037 correspondiente a *E. coli* BLEE presentó solo el gen *bla_{CTX-M}*.

El análisis de la resistencia a la fosfomicina en nuestros aislados de *Escherichia coli* se relaciona con la problemática nacional documentada por Villavicencio et al. (2022) en Quito. Dicho estudio reportó una prevalencia de resistencia a Fosfomicina del 21,4% en aislados humanos de *E. coli* ESBL y que vincularon a la diseminación del gen *fosA3* a través de la cadena alimentaria (granjas avícolas). En nuestra investigación, la resistencia general a fosfomicina en *E. coli* fue del 25% (4/17), una cifra que incluso supera ligeramente la tasa reportada en Quito. A pesar de ello nuestros aislados BLEE analizados molecularmente (AG-037 y AG-080) resultaron sensibles a la fosfomicina por otro lado, si existió la resistencia a la fosfomicina en los demás casos de *E. coli* que no fueron BLEE lo que sugiere que nuestra población tal vez está experimentando la transferencia de genes como *fosA3* dentro del ambiente comunitario. Cabe mencionar que de nuestra cepa AG-037 tuvo una resistencia también a cefoxitin considerándolo de igual manera como un AmpC (20).

La resistencia de nuestras cepas BLEE del género *Klebsiella* spp. con el estudio de Fajardo-Loyola et al. (2023) en Lima y Callao, Perú, este estudio encontró que los aislados ESBL de *Klebsiella pneumoniae* tienen una resistencia de 92,9% a ciprofloxacina y 85,7% a gentamicina. Por otro lado, nuestros aislados de *Klebsiella* spp. BLEE de Pelileo su resistencia es menor, con solo 7,69% de resistencia a ciprofloxacina y 0% a gentamicina, en el cual se puede decir que el gen BLEE, aunque ya se encuentre en el área, las cepas locales aún no han adquirido los plásmidos de multirresistencia. Por

último, cabe destacar que ambas investigaciones confirman la sensibilidad de meropenem como la última línea de defensa (18).

Al comparar los resultados de nuestro estudio de cepas BLEE del género *Klebsiella* spp. con otro estudio nacional de Hernández-Alomía et al. (2025) en Otavalo, ambos estudios coinciden en la caracterización molecular, identificando a los genes *bla_{CTX-M}* y *bla_{TEM}* como los principales responsables de la resistencia a beta-lactámicos en los *Enterobacterales*. Sin embargo, existe una diferencia en la prevalencia de resistencia dentro del género *Klebsiella* spp., mientras que en Pelileo hemos aislado cepas de *K. pneumoniae* y *K. oxytoca* que son BLEE positivas y han adquirido resistencia a fosfomicina del 15,38%, el estudio de Otavalo reportó que sus aislados de *Klebsiella* spp. no presentaron ningún gen de resistencia antimicrobiana. Por lo tanto, a pesar de la similitud en la población ambulatoria, las cepas de *Klebsiella* spp. en Pelileo han desarrollado mecanismos de resistencia fenotípica y molecular más complejos que los observados en Otavalo (48).

Un estudio realizado en Colombia por Saavedra-Rojas et al. (2017), documento la emergencia de *Providencia rettgeri* portadora de la carbapenemasa NDM-1, el cual confiere una resistencia total a los carbapenémicos siendo esta la última línea de defensa, también fueron resistentes a colistina, ciprofloxacina y gentamicina, por otro lado, en nuestro estudio el aislado de *Providencia rettgeri* (AG-043) aunque es BLEE positivo con presencia de los genes *bla_{CTX-M}* y *bla_{TEM}* y resistente a colistina y ciprofloxacina, aún mantiene una sensibilidad a meropenem y a gentamicina, a pesar de los mecanismos de resistencia BLEE, la ausencia de la carbapenemasa NDM-1 en nuestra población significa que los carbapenémicos siguen siendo un tratamiento alternativo a diferencia de los casos registrados en Colombia (49).

El estudio realizado por Alkan S. et al. (2024), enfocado en factores asociados a la producción de BLEE en adultos mayores, muestran que la hospitalización previa, uso de antibióticos, uso de catéter son los principales impulsores de esta resistencia nuestros resultados muestran una ITU positiva para los factores de higiene y estilo de vida. En esta investigación el 69,2% representa higiene personal de menos de 3 veces por semana seguida del sedentarismo con un 59,1% para participantes que permaneces sentados más de 7 horas y la baja hidratación represento el 55% para casos de ITU positivos (12). Por otro lado, en la investigación de Silva et al (2021) identificó a la Diabetes mellitus como un factor significativo de ITU este hallazgo mientras que en nuestro estudio esta

enfermedad tuvo una prevalencia del 53,8% (5/13) de los casos (16). Estas diferencias entre los tres estudios sugieren que el mayor riesgo en nuestra localización se debe al comportamiento y el autocuidado de los adultos mayores.

Los datos obtenidos en esta investigación y la literatura revisada determinan que, en la población de adultos mayores que acuden a la Unidad de Salud de Pelileo, el 40% de las muestras analizadas fueron positivas para ITU, se puede afirmar que *Escherichia coli* es el principal agente etiológico, con una prevalencia significativamente más alta en el género femenino con un 46,7% de positividad, el cual se atribuye al riesgo anatómico y a factores como la higiene deficiente 69,2% y el bajo consumo de agua 55%. Además, la nitrofurantoína sigue siendo una opción efectiva, manteniendo una sensibilidad del 93,75%, mientras que la fosfomicina muestra una eficacia del 75% y la gentamicina, aunque no es muy utilizada para tratar infecciones del tracto urinario es mejor que el uso de amikacina. Por lo tanto, aunque la aparición de cepas BLEE es un riesgo latente, la variabilidad en los perfiles de susceptibilidad recalcan la necesidad de realizar el urocultivo y el antibiograma en pacientes ambulatorios con ITU para asegurar la elección del fármaco y preservar la sensibilidad del 100% de los carbapenémicos en el ambiente local.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

La presente investigación se centró en la caracterización de los *Enterobacterales* spp. causantes de infecciones del tracto urinario (ITU) logrando caracterizar a un total de 80 pacientes adultos mayores de la Unidad de Salud de Pelileo.

Se caracterizaron a todos los pacientes con sospecha de ITU en adultos mayores, encontrando que la prevalencia de urocultivos positivos ≥ 100.000 UFC/mL, fue del 40% (32/80) en donde se identificó que el patógeno más prevalente en nuestra población fue *Escherichia coli*, con el 53,13% (17/32) de los casos aislados, seguido de *K. oxytoca* 21,88% (7/32), *K. pneumoniae* 18,75% (6/32) y *K. aerogenes* 3,13% (1/32) además de la caracterización poco frecuente la cual fue *Providencia rettgeri* con un 3,1% (1/32).

Se evaluó el perfil de susceptibilidad de los *Enterobacterales* aislados, en donde se encontró que la mayoría de los microorganismos son sensibles a nitrofurantoina con un 93,75% y 100% sensibles a los carbapenémicos confirmándolo como una alternativa para el tratamiento. No obstante, cabe recalcar la resistencia a la fosfomicina para *E. coli* con un 25% mientras que para *Klebsiella* spp. fue del 14%.

Se detectaron cinco aislamientos con un perfil de resistencia de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), la identificación molecular de los genes confirmó que los mecanismos de resistencia están codificados principalmente por los genes *bla_{CTX-M}* y *bla_{TEM}*.

El análisis estadístico entre la presencia de cepas BLEE y los factores de riesgo en adultos mayores manifestó que la conducta y el estilo de vida son los principales que generan una ITU y posteriormente genes BLEE. El 100% de la población con cepas BLEE consumía "Menos de 4 vasos" de agua al día y presentaban sedentarismo de "Más de 7 horas", destacándolos como factores predominantes. Además, el riesgo también se da por el descenso de higiene personal 80% de los casos BLEE y la Diabetes mellitus en un 40%, es importante saber que el 80% de los aislados BLEE fueron adquiridos a nivel comunitario, por tanto, los hábitos de autocuidado facilitan la adquisición de estos genes de resistencia en la comunidad de Pelileo.

4.2. Recomendaciones

- A nivel de la Unidad de Salud de Pelileo, se debe mantener y priorizar el uso de Nitrofurantoína como terapia empírica de primera línea para las ITU no complicadas, dada su alta sensibilidad.
- Desarrollar charlas de salud pública dirigidas a los adultos mayores que enfatizen la higiene personal diaria y el consumo de agua suficiente.
- Se recomienda aumentar el número poblacional de estudio para identificar más cepas que están causando estas infecciones del tracto urinario específicamente en esta población.
- Es importante seguir instruyendo a la población sobre la importancia del manejo adecuado de los antibióticos, para conservar el efecto de los antibióticos y evitar la prolongación de la resistencia a los carbapenémicos.

BIBLIOGRAFÍAS

1. Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública-INSPI “Dr Leopoldo Izquieta Pérez”. CENTRO DE REFERENCIA NACIONAL DE RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS (CRN-RAM) Reporte anual de susceptibilidad antibiótica periodo 2022. CENTRO DE REFERENCIA NACIONAL DE RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS (CRN-RAM) [Internet]. diciembre de 2024 [citado el 23 de septiembre de 2025];1:1–34. Disponible en: https://www.investigacionsalud.gob.ec/webs/ram/wp-content/uploads/2024/01/Boletin-RAM_2022.pdf
2. Gilboa M, Hack S, Hochner S, Gitbinder M, Yakovlev M, Bineth N, et al. Safe and Effective Treatment of Patients with Urinary Tract Infections Caused by Extended-Spectrum Beta Lactamase-Producing Enterobacteriaceae via Telemedicine-Controlled Hospital at Home: A Case Series of 11 Patients. Reports. el 26 de abril de 2024;7(2):31.
3. Remenik-Zarauz V, Diaz-Velez C, Apolaya-Segura M, Remenik-Zarauz V, Diaz-Velez C, Apolaya-Segura M. Factors Associated with the Presence of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Pathogens in Urinary Tract Infections in a Private Clinic in Lima, Peru. Revista Ciencias de la Salud [Internet]. 2020 [citado el 28 de septiembre de 2025];18(2):29–39. Disponible en:

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-72732020000200029&lng=en&nrm=iso&tlng=en

4. Carriel Alvarez M, Ortiz J. Prevalencia de infección del tracto urinario y perfil de susceptibilidad antimicrobiana en Enterobacterias. *Revista Vive* [Internet]. el 4 de mayo de 2021 [citado el 5 de octubre de 2025];4(11):217–28. Disponible en: <https://revistavive.org/index.php/revistavive/article/view/103/287>
5. Analisis de orina y de los liquidos corporales. 5a ed. Buenos Aires: Médica Panamericana: Editorial Medica Panamericana Sa de; 2010. 1–320 p.
6. Jensen ML V., Siersma V, Søres LM, Nicolaisdottir D, Bjerrum L, Holzknecht BJ. Prior Antibiotic Use Increases Risk of Urinary Tract Infections Caused by Resistant *Escherichia coli* among Elderly in Primary Care: A Case-Control Study. *Antibiotics* [Internet]. el 9 de octubre de 2022 [citado el 9 de noviembre de 2025];11(10):1382. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11101382>
7. Ministerio de Salud Pública del Ecuador. Plan Nacional para la prevención y control de la resistencia antimicrobiana. Viceministro de Gobernanza y Vigilancia de la Salud [Internet]. 2020 [citado el 7 de octubre de 2025];(Quito). Disponible en: https://salud.gob.ec/wp-content/uploads/2019/10/Plan-Nacional-para-la-prevenci%C3%B3n-y-control-de-la-resistencia-antimicrobiana_2019_compressed.pdf
8. Díaz Padilla GA. AUTOMEDICACIÓN CORRELACIONADA A INFECCIONES DE VÍAS URINARIAS EN MUJERES EN EDAD FÉRTIL DE LA MATERNIDAD BABAHOYO AÑO 2019. *Más Vita* [Internet]. el 5 de mayo de 2020 [citado el 9 de noviembre de 2025];2(2 Extraord):36–48. Disponible en: <https://doi.org/10.47606/ACVEN/MV0034>
9. Loja Guamán RO, Ortiz Tejedor JG. Prevalencia de Infección del tracto urinario por bacterias uropatógenas y mecanismos de resistencia, en pacientes que acuden a un laboratorio de alta complejidad en Cuenca – Ecuador, 2021 – 2023. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar* [Internet]. el 28 de febrero de 2025 [citado el 30 de septiembre de 2025];9(1):6609–23. Disponible en: <https://ciencialatina.org/index.php/cienciala/article/view/16360/23363>
10. Rodrigues FJB, Coelho P, Mateus S, Metello J, Castelo-Branco M. Epidemiological Profile and Antibiotic Resistance in Urinary Tract Infections Among Elderly Women. *Women* [Internet]. el 14 de mayo de 2025 [citado el 9 de

- noviembre de 2025];5(2):16. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/women5020016>
11. Jover-Sáenz A, Ramírez-Hidalgo M, Bellés Bellés A, Ribes Murillo E, Batlle Bosch M, Cayado Cabanillas J, et al. Impact of a Primary Care Antimicrobial Stewardship Program on Bacterial Resistance Control and Ecological Imprint in Urinary Tract Infections. *Antibiotics* 2022, Vol 11, Page 1776 [Internet]. el 8 de diciembre de 2022 [citado el 29 de septiembre de 2025];11(12):1776. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2079-6382/11/12/1776/htm>
 12. Alkan S, Balkan II, Surme S, Bayramlar OF, Kaya SY, Karaali R, et al. Urinary tract infections in older adults: associated factors for extended-spectrum beta-lactamase production. *Front Microbiol* [Internet]. 2024 [citado el 30 de septiembre de 2025];15:1384392. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11112107/>
 13. McCowan C, Bakhshi A, McConnachie A, Malcolm W, Barry SJ, Santiago VH, et al. E. coli bacteraemia and antimicrobial resistance following antimicrobial prescribing for urinary tract infection in the community. *BMC Infect Dis* [Internet]. el 28 de octubre de 2022 [citado el 9 de noviembre de 2025];22(1):805. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12879-022-07768-7>
 14. Villacreses WAL, Villacreses WAL, Moncada M del CL, Muñiz MLC, Parrales ENL. Tendencias epidemiológicas de las infecciones de las vías urinarias. Una realidad actual. *Polo del Conocimiento* [Internet]. el 1 de abril de 2025 [citado el 30 de septiembre de 2025];10(3):2808–23. Disponible en: <https://polodelconocimiento.com/ojs/index.php/es/article/view/9219>
 15. Nedbal C, Mahobia N, Browning D, Somani BK. Variability in Profiles and Prevalences of Gram-Negative Bacteria in Urinary Tract Infections: A Population-Based Analysis. *J Clin Med* [Internet]. el 7 de septiembre de 2024 [citado el 9 de noviembre de 2025];13(17):5311. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/jcm13175311>
 16. Silva JLA da, Fonseca CD da, Stumm EMF, Rocha RM, Silva MR da, Barbosa DA. Factors associated with urinary tract infection in a Nursing Home. *Rev Bras Enferm* [Internet]. 2021 [citado el 19 de octubre de 2025];74(2):20200813. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/0034-7167-2020-0813>
 17. Serrettiello E, Folliero V, Santella B, Giordano G, Santoro E, De Caro F, et al. Trend of Bacterial Uropathogens and Their Susceptibility Pattern: Study of Single

- Academic High-Volume Center in Italy (2015–2019). *Int J Microbiol* [Internet]. el 21 de abril de 2021 [citado el 9 de octubre de 2025];2021:1–10. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2021/5541706>
18. Fajardo-Loyola A, Yareta-Yareta J, Meza-Fernández H, Soto-Pastrana J, Marcos-Carbaja P, Fajardo-Loyola A, et al. Molecular characteristics of antibiotic-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates obtained from urine samples of patients with urinary tract infection in Lima and Callao, Peru. *Revista de la Facultad de Medicina* [Internet]. el 1 de julio de 2023 [citado el 28 de septiembre de 2025];71(3). Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-00112023000300005&lng=en&nrm=iso&tlng=en
 19. Gonzales-Rodriguez AO, Infante Varillas SF, Reyes-Farias CI, Ladines Fajardo CE, Gonzales Escalante E. Extended-spectrum β -lactamases and virulence factors in uropathogenic *Escherichia coli* in nursing homes in Lima, Peru. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* [Internet]. 2022 [citado el 29 de septiembre de 2025];39(1):98. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11397600/>
 20. Villavicencio F, Jaramillo K, Zurita J, Ortega-Paredes D, Ocampo R. Unexpected high prevalence of fosfomycin resistance mediated by *fosA3* in *Escherichia coli* ESBL isolated from poultry farms, broiler carcasses, and humans in Quito, Ecuador. . ESCMID European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases [Internet]. el 23 de abril de 2022 [citado el 6 de diciembre de 2025]; Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/360427324_Unexpected_high_prevalence_of_fosfomycin_resistance_mediated_by_fosA3_in_Escherichia_coli_ESBL_isolated_from_poultry_farms_broiler_carcasses_and_humans_in_Quito_Ecuador#:~:text=Therefore%2C%20this%20study%20aimed%20to%20establish%20the%20prevalence,3GC%20and%20FOS%20at%20the%20replicon%20type%20level.
 21. Proaño Larrea CA. INCIDENCIA DE INFECCIÓN DEL TRACTO URINARIO ASOCIADO A CATÉTER VESICAL. *Revista de Investigación Talentos* [Internet]. el 30 de junio de 2021 [citado el 6 de octubre de 2025];8(1):84–92. Disponible en: <https://doi.org/10.33789/talentos.8.1.145>
 22. Alkan-Ceviker S, Gunal O, Kilic SS. Investigation of Risk Factors in Recurrent Urinary Tract Infections in Adults. *Klimik Dergisi/Klimik Journal* [Internet]. el 24

- de enero de 2020 [citado el 4 de septiembre de 2025];32(3):303–9. Disponible en: <https://www.webofscience.com/wos/woscc/full-record/WOS:000511173500015>
23. Aryee A, Rockenschaub P, Robson J, Priebe M, Ahmed Z, Fhogartaigh CN, et al. Hospital admission after primary care consultation for community-onset lower urinary tract infection: a cohort study of risks and predictors using linked data. *British Journal of General Practice* [Internet]. septiembre de 2023 [citado el 9 de octubre de 2025];73(734):e694–701. Disponible en: <https://doi.org/10.3399/BJGP.2022.0592>
 24. Ahmed AE, Abdelkarim S, Zenida M, Baiti MAH, Alhazmi AAY, Alfaifi BAH, et al. Prevalence and Associated Risk Factors of Urinary Tract Infection among Diabetic Patients: A Cross-Sectional Study. *Healthcare (Basel)* [Internet]. el 1 de marzo de 2023 [citado el 7 de octubre de 2025];11(6). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36981518/>
 25. Hooton TM, Vecchio M, Iroz A, Tack I, Dornic Q, Seksek I, et al. Effect of Increased Daily Water Intake in Premenopausal Women With Recurrent Urinary Tract Infections: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Intern Med* [Internet]. el 1 de noviembre de 2018 [citado el 7 de octubre de 2025];178(11):1509–15. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30285042/>
 26. Park HJ, Park CH, Chang Y, Ryu S. Sitting time, physical activity and the risk of lower urinary tract symptoms: a cohort study. *BJU Int* [Internet]. el 1 de agosto de 2018 [citado el 7 de octubre de 2025];122(2):293–9. Disponible en: [/doi/pdf/10.1111/bju.14147](https://doi.org/10.1111/bju.14147)
 27. Murray PR., Rosenthal KS., Pfaller MA. *Microbiología médica*. 7a ed. Madrid: Elsevier España; 2014. 258–279 p.
 28. Susan King Strasinger. *Análisis de Orina y de Los Líquidos Corporales*. En: 5a ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2010. p. 34–7.
 29. Susan King Strasinger. *Análisis de Orina y de Los Líquidos Corporales*. En: 5a ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2010. p. 41–120.
 30. Prats G. *Microbiología clínica*. En: 1a ed. Editorial Médica Panamericana; 2006. p. 239–44.
 31. Murray PR., Rosenthal KS., Pfaller MA. *Microbiología médica*. En Elsevier España; 2014. p. 20–8.
 32. Prats G. *Microbiología clínica*. En: 1a ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2006. p. 17–74.

33. Varón López Maryeimy. Manual de laboratorio en microbiología general [Internet]. 1a ed. Sello Editorial Universidad del Tolima; 2023 [citado el 10 de octubre de 2025]. Disponible en: <https://elibro-net.uta.lookproxy.com/es/ereader/uta/232952?page=84>.
34. Rodríguez Álvarez MFabiola, Parra G. CMarcela. Laboratorio de microbiología para optómetras. En: 1a ed. Bogota: Universidad de La Salle, Facultad de Ciencias de la Salud; 2011 [citado el 11 de octubre de 2025]. p. 73–88. Disponible en: <https://elibro-net.uta.lookproxy.com/es/ereader/uta/221570?page=6>.
35. Rodríguez Álvarez MFabiola, Parra G. CMarcela. Laboratorio de microbiología para optómetras. En: 1a ed. Bogota: Universidad de La Salle, Facultad de Ciencias de la Salud; 2011 [citado el 11 de octubre de 2025]. p. 89–98. Disponible en: <https://elibro-net.uta.lookproxy.com/es/ereader/uta/221570?page=6>.
36. Orengo Ferriz DJ. Fundamentos de biología molecular. En: 1a ed. Barcelona: Editorial UOC; 2013 [citado el 12 de octubre de 2025]. p. 41–54. Disponible en: <https://elibro.net/es/ereader/uta/56750?page=48>
37. Liu Y, Chen J, Cheng Y, Li Y, Li X, Zhang Z, et al. A simple and rapid technique of template preparation for PCR. Front Microbiol [Internet]. el 10 de noviembre de 2022 [citado el 4 de diciembre de 2025];13:1024827. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1024827>
38. BioRender Team. Polymerase Chain Reaction (PCR). 2025 [citado el 8 de diciembre de 2025]. BioRender Templates. Disponible en: <https://app.biorender.com/biorender-templates/figures>
39. HealthLab. Cómo recolectar una muestra de orina para análisis de orina y estudios de cultivo y susceptibilidad [Internet]. 2023 nov [citado el 28 de agosto de 2025]. Disponible en: <https://www.healthlabtesting.com/en/clients/forms-and-instructions>
40. De la Torre Fiallos AV, Guangasig Toapanta VH, Pacha Jara AG, Rugel Moposita JD. Condiciones para la toma de muestra de orina. Revista Científica Arbitrada Multidisciplinaria PENTACIENCIAS [Internet]. el 13 de octubre de 2023 [citado el 4 de diciembre de 2025];5(6):640–6. Disponible en: <https://doi.org/10.59169/pentaciencias.v5i6.833>
41. Castillo Loaiza LM, Montaña CA. Prácticas de biología. Plataforma Abierta de Libros y Memorias Académicas - PALMA [Internet]. el 15 de mayo de 2024

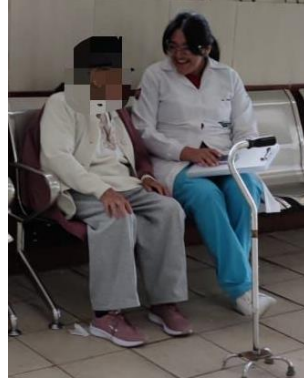
- [citado el 4 de diciembre de 2025];1:17–70. Disponible en: <https://cipres.sanmateo.edu.co/ojs/index.php/libros/article/view/998>
42. Navarro F, Calvo J, Cantón R, Fernández-Cuenca F, Mirelis B. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gramnegativos. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. el 1 de agosto de 2011 [citado el 4 de diciembre de 2025];29(7):524–34. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-deteccion-fenotipica-mecanismos-resistencia-microorganismos-S0213005X11001546>
 43. Marcos-Merino , José María, Gallego RE, Ochoa de Alda JG, Marcos-Merino , José María, Gallego RE, Ochoa de Alda JG. Extracción de ADN con material cotidiano: desarrollo de una estrategia interdisciplinar a partir de sus fundamentos científicos. *Educación química* [Internet]. el 7 de febrero de 2019 [citado el 4 de diciembre de 2025];30(1):58–69. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-893X2019000100058&lng=es&nrm=iso&tlng=es
 44. Arce Gil Z, Llontop Nuñez J, Alarcón Benavides E, López López E. Detección de los genes SHV, TEMY CTX-M en cepas de *Escherichia coli* β -lactamasas de espectro extendido procedentes de un Hospital de Chiclayo- Perú. *Revista del cuerpo médico* [Internet]. 2014 [citado el 26 de octubre de 2025];7(3):27–30. Disponible en: http://www.cmhnaaa.org.pe/pdf/v7-n3-2014/RCM-V7-N3-2014_full.pdf#page=28
 45. Goenaga MÁ, María Morán J, Carrera JA, Garde C, Millet M. Bacteriemia por *Providencia rettgeri*. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. el 1 de junio de 2001 [citado el 6 de diciembre de 2025];19(6):282–3. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-bacteriemia-por-providencia-rettgeri-S0213005X01726419>
 46. Artero-López J, Gutiérrez-Soto B, Expósito Ruiz M, Sorlozano Puerto A, Navarro Marí JM, Gutiérrez Fernández J. Etiología de las infecciones urinarias en nuestra área sanitaria y perfil de sensibilidad de los uropatógenos más frecuentes. *Arch Esp Urol* [Internet]. 2021 [citado el 6 de diciembre de 2025];18(2020):197–207. Disponible en: <https://digibug.ugr.es/handle/10481/90512>
 47. Zarnowski Varela D, Salazar Santizo A, Zarnowski Gutiérrez A. Infección del tracto urinario adquirida en la comunidad. *Revista Medica Sinergia* [Internet]. el 1

- de septiembre de 2021 [citado el 6 de diciembre de 2025];6(9):e710–e710. Disponible en: <https://revistamedicasinergia.com/index.php/rms/article/view/710>
48. Hernández-Alomía F, Bastidas-Caldes C, Zambrano A, Narváez M, Castillejo P. Molecular characterization of antimicrobial resistance genes and plasmid profiles in enterobacteriales isolated from urinary tract infections in rural outpatient women in Otavalo, Ecuador. *BMC Infectious Diseases* 2025 25:1 [Internet]. el 23 de octubre de 2025 [citado el 6 de diciembre de 2025];25(1):1397-. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1186/s12879-025-11604-z>
49. Saavedra-Rojas SY, Duarte-Valderrama C, González-de-Arias MN, Ovalle-Guerro MV. Emergencia de *Providencia rettgeri* NDM-1 en dos departamentos de Colombia, 2012-2013. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. el 1 de junio de 2017 [citado el 6 de diciembre de 2025];35(6):354–8. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-emergencia-providencia-rettgeri-ndm-1-dos-S0213005X15001986>

ANEXOS

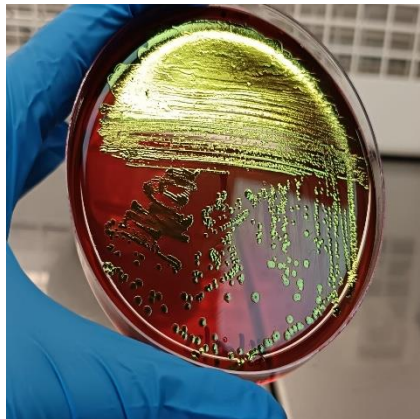
Anexo 1. Fotografías del proceso del desarrollo del proyecto de investigación

Gráfico 21. Socialización del proyecto de investigación



Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

Gráfico 22. Crecimiento cepa control ATCC 25922.



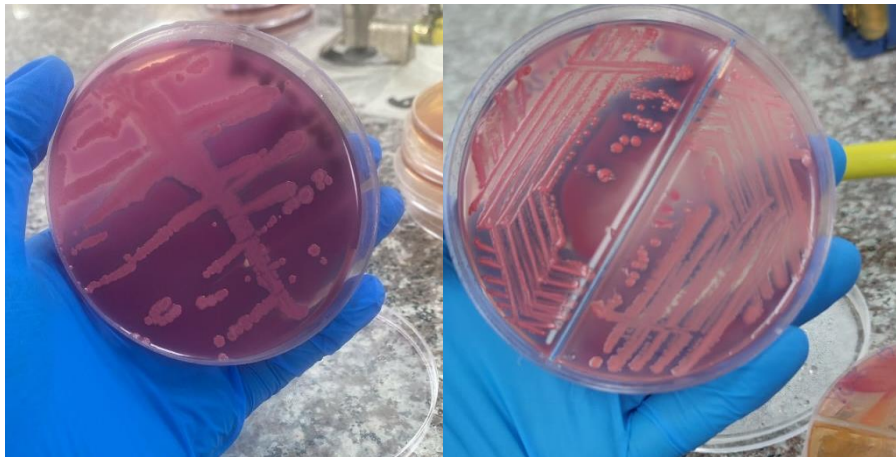
Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

Gráfico 23. Análisis de muestras de orina.



Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

Gráfico 24. *Contaje de colonias en agar Mackonkey.*



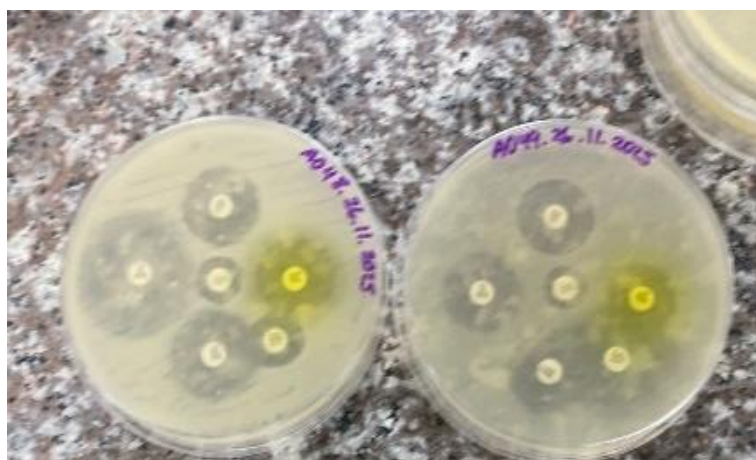
Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

Gráfico 25. *Siembra en tubos para identificación*



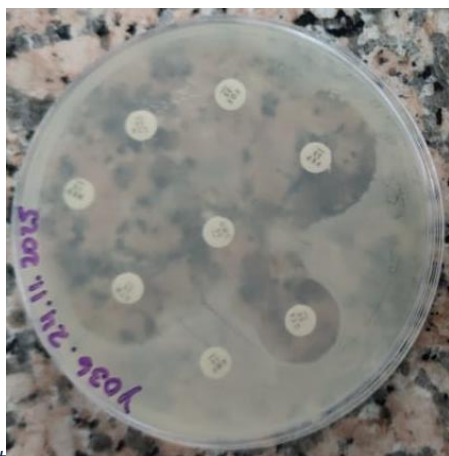
Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

Gráfico 26. *Medida de halos de inhibición.*



Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

Gráfico 27. Cepa productora de betalactamasas (BLEE)

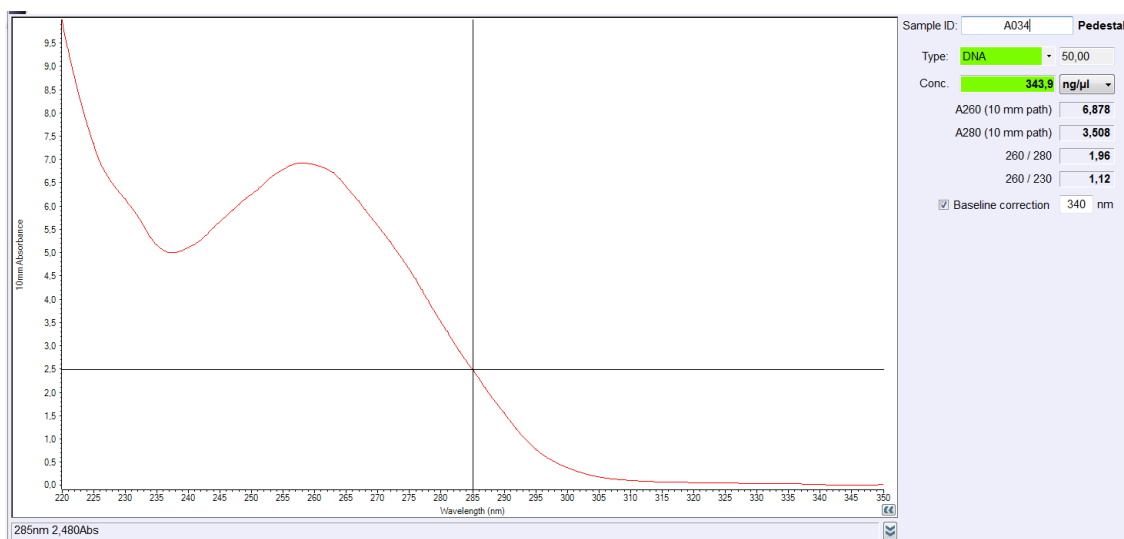


Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

Gráfico 28. Extracción de ADN bacteriano por shock térmico



Gráfico 29. Cuantificación de ADN en el equipo Nanodrop



Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

Gráfico 30. Preparación de la Master Mix y realización de la Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)



Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

Gráfico 31. Corrida electroforética y lectura



Elaborado por: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano

Anexo 2. Operacionalización de variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	ESCALA	INDICADORES	TÉCNICA E INSTRUMENTO
Presencia de <i>Enterobacterales</i> BLEE (Variable Dependiente)	Infección del tracto urinario por <i>Enterobacterales</i> productora de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE). (18)	Identificación fenotípica de cepas de <i>Enterobacterales</i> BLEE en aislamientos de ITU de adultos mayores.	- Recuento de UFC/mL - Morfología colonial.	- Cuantitativa discreta - Cualitativa nominal	$\geq 10^5$ UFC/mL - Crecimiento bacteriano: Positivo (BLEE).	Observación, urocultivo cuantitativo y batería bioquímica
			Baterías bioquímicas <i>E. coli</i> : - TSI. - Citrato. - Urea. - VP. - RM. - SIM. - LIA.	Cualitativa nominal	- TSI: A/A (Amarillo). - Citrato: Verde (-). - Urea: Amarillo (-). - VP: Ausencia de color rojo (-). - RM: Rojo (+). - SIM: ✓ H2S: (-). ✓ Indol: Halo rojo (+). ✓ Motilidad: Turbidez (+).	
			Baterías bioquímicas <i>K. spp.</i> - TSI. - Citrato. - Urea. - VP. - RM. - SIM. - LIA.	Cualitativa nominal	- TSI: A/A (Amarillo). - Citrato: Verde (+). - Urea: Amarillo (+). - VP: Ausencia de color rojo (+). - RM: (V). - SIM: ✓ H2S: (-). ✓ Indol: (-). ✓ Motilidad: Turbidez (-). - LIA: K/K (Morado).	

Susceptibilidad Antimicrobiana (Variable independiente)	Capacidad de un antimicrobiano para inhibir el crecimiento <i>in vitro</i> de las cepas.	Evaluación de la respuesta de <i>Enterobacteriales</i> a diferentes antimicrobianos por Test de Sinergia.	Antibiograma <i>E. coli</i> : AMC, CAZ, CRO, CTX, FOX, FEP, ATM, CIP, GEN, AMK, COL.	Cualitativa nominal	• Sensible (S) • Intermedio (I) • Resistente (R) (según CLSI M100). • Diámetro del halo de inhibición (mm).	Antibiograma (Discodifusión).
Frecuencia de los genes productores de BLEE en cepas <i>Enterobacter spp.</i> (Variable independiente)	Proporción de cepas de <i>E. coli</i> que poseen genes que codifican beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE).	Identificación de genes bla por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).	Genes BLEE: • bla_{CYM} • bla_{TEM}. • bla_{CTX-M}	Cuantitativa continua	• Presencia/Ausencia del gen (visualización de banda). • Frecuencia (%) de cada gen en la muestra total.	PCR y Electroforesis en Gel.
Factores de riesgo (Variable independiente)	Condiciones clínicas que se asocian a un mayor riesgo de infección por <i>Enterobacteriales</i> BLEE.	Recolección de datos por cuestionario aplicado a los participantes.	Cuestionario de preguntas sobre los factores de riesgo para la colonización de <i>E. coli</i> BLEE. (Ver en Anexo 3).	Cualitativa Nominal / Cuantitativa Discreta	Selección múltiple	Encuestas

Anexo 3. Encuesta

Estimado/a paciente

Código: _____

Por favor, complete esta breve encuesta. Sus respuestas serán tratadas con total confidencialidad y utilizadas únicamente con fines de investigación científica. ¡Gracias por su participación!

1. **Edad:** _____ años
2. **Sexo:**
 - ☐ Masculino
 - ☐ Femenino
3. **¿Presenta alguna enfermedad crónica? (marque todas las que correspondan)**
 - ☐ Diabetes mellitus
 - ☐ Hipertensión arterial
 - ☐ Insuficiencia renal crónica
 - ☐ ETS
 - ☐ Otra: _____
 - ☐ Ninguna
4. **¿Ha utilizado un catéter urinario en los últimos 12 meses?**
 - ☐ Sí
 - ☐ No
5. **¿Ha tomado antibióticos recientemente?**
 - ☐ No ha tomado antibióticos en los últimos 30 días
 - ☐ Sí, hace más de 3 días
 - ☐ Sí, dentro de las últimas 48 horas

En caso de haber tomado antibióticos, indique cuál(es): _____
6. **¿Con qué frecuencia realiza higiene personal (baño o ducha corporal)?**
 - ☐ Diario
 - ☐ Cada 2 días
 - ☐ Menos de 3 veces por semana
7. **¿Cuántos vasos de agua consume al día?**
 - ☐ Menos de 4 vasos
 - ☐ Entre 4 y 7 vasos
 - ☐ 8 vasos o más
8. **¿Cuántas horas permanece sentado al día (aprox.)?**
 - ☐ Menos de 4 horas
 - ☐ 4-7 horas
 - ☐ Más de 7 horas
9. **¿Ha estado hospitalizado?**
 - ☐ Si _____ (Hace que tiempo)
 - ☐ No

Anexo 4. Consentimiento informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Sección I: INFORMACIÓN PARA EL PARTICIPANTE/REPRESENTANTE LEGAL

A) Hoja de información:

Título del estudio: CARACTERIZACIÓN DE Enterobacterales CON BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN INFECCIONES URINARIAS DE ADULTOS MAYORES DE LA UNIDAD DE SALUD DE PELILEO

Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano / Av. Julio Enrique Paredes y Pablo Arturo Suarez / 09840704726 Investigador Principal:

Le estamos pidiendo que autorice la recolección y uso de su **muestra de orina e información sobre los factores de riesgo en infecciones del tracto urinario** durante la realización del estudio CARACTERIZACIÓN DE Enterobacterales CON BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN INFECCIONES URINARIAS DE ADULTOS MAYORES DE LA UNIDAD DE SALUD DE PELILEO.

Su participación es completamente voluntaria; puede aceptar participar en el estudio principal y no en esta sección, sin que ello le provoque inconveniente alguno en su atención en salud.

Lea toda la información que se le ofrece en este documento y haga todas las preguntas que necesite al investigador que se lo está explicando, antes de tomar una decisión. También lo alentamos a consultarlo con su familia, amigos y médicos de cabecera.

1) ¿Por qué se realiza este estudio?

El propósito de esta investigación es identificar colonización bacteriana de *Enterobacterales* BLEE en adultos mayores que acuden al Hospital Básico de Pelileo con un predominio de microorganismos productores de BLEE que tengan una sintomatología y recurrencia de infecciones en el tracto urinario.

2) ¿Qué pasará si participo de esta parte del proyecto de investigación, luego de que firme este Consentimiento Informado?:

- 2.1. Se recolectará muestras de orina en un recipiente hermético de tapa rosca de plástico, bajo criterios de aceptación o rechazo de muestras de orina.
- 2.2. Se le realizará una encuesta “Encuesta de factores de riesgo”, para recabar información acerca de los factores de riesgo que predisponen a la colonización de *Enterobacterales* productoras de BLEE en adultos mayores que acuden a la Unidad Anidada Hospital Básico de Pelileo.

3) ¿Qué riesgos podría tener si participo?

Los riesgos asociados con este procedimiento son generalmente mínimos ya que no se intervendrá en la recolección, sin embargo, pueden incluir molestias debido a la naturaleza del procedimiento.

También hay algún riesgo potencial para su privacidad, a pesar de que se tomarán todas las medidas necesarias para mantener la privacidad de su identidad y la confidencialidad de sus datos personales.

4) ¿Cuánto tiempo me tomará participar en esta parte del estudio? Está previsto que su participación dure (lapso de tiempo).

Está previsto que su participación dure un mes durante el ciclo académico.

5) ¿Tendré beneficios por participar?

El estudio planteado es de importancia significativa ya que podrá conocer si Ud. esta colonizado por un microorganismo bacteriano y los factores de riesgo que predisponen su presencia, de este modo, podrá actuar de mejor manera frente a las medidas de bioseguridad.

6) ¿Me darán información sobre los resultados del estudio, luego de su finalización?

Si, por supuesto, una vez culminado el estudio, se le brindará la información necesaria acerca de sus resultados obtenidos

7) ¿Qué gastos tendré si participo del estudio?

Ud. no tendrá gasto alguno relacionado a los procedimientos y materiales necesarios para esta investigación. Se cubrirán los gastos médicos siempre y cuando sufra algún daño o lesión relacionada con la investigación. No se cubrirán estudios ni medicamentos que no estén relacionados con el estudio.

8) ¿Qué pasará si sufro algún evento adverso mientras participo en el estudio?

Si durante el transcurso del mismo usted sufre un daño físico, una lesión o una consecuencia en su salud relacionada con la/s drogas o procedimientos del mismo, se le proveerá toda la asistencia médica inmediata y necesaria para su tratamiento.

9) ¿Puedo dejar de participar en cualquier momento, aún luego de haber aceptado?

Usted es libre de retirar su consentimiento para participar en esta parte de la investigación en cualquier momento sin que esto lo perjudique en su atención médica posterior; simplemente deberá notificar al investigador de su decisión oralmente.

Luego de que retire su consentimiento no se podrá obtener datos sobre Ud. y su salud, pero toda la información obtenida con anterioridad sí será utilizada.

10) ¿Puedo retirar mi consentimiento para la utilización de muestras biológicas, aún luego de haber aceptado?

Si Ud. ha dado su autorización para almacenar sus muestras biológicas en este caso orina para estudios a realizarse en el futuro, puede cambiar de opinión en cualquier momento. Debe notificar al investigador oralmente sobre su decisión.

11) ¿Cómo mantendrán la confidencialidad de mis datos y muestra

Se realizará una base de datos de los participantes involucrados en el proyecto de investigación, a partir de la cual se elaborará una codificación alfanumérica para mantener el anonimato los datos personales registrados, en base a la fecha de recolección de la muestra y orden establecido, como se explica a continuación. *Ejemplo de codificación:* AAA/mm/dd-Orden secuencial. 20250801-001

Nota: En base a esta codificación se empleará un sistema de etiquetado de las muestras de orina receptadas, así como el procesamiento de estas en el laboratorio de Microbiología y Biología Molecular.

12) ¿Cómo, dónde y por cuánto tiempo se almacenarán mis datos y muestras? ¿Cómo las destruirán luego de su utilización?

Sus muestras serán procesadas una vez hayan sido recolectadas según el cronograma establecido por el investigador. En cuanto a los datos obtenidos serán almacenados en una base de datos digital con la finalidad del análisis de sus resultados y tabulación de la información para el proceso investigativo durante el período de duración del proyecto. Después de este período serán almacenados en un cepario con los métodos que cumplan con los procedimientos del laboratorio y de la institución.

13) ¿Puedo ser retirado del estudio aún si yo no quisiera?

El investigador, el comité de ética, que supervisan el estudio pueden decidir retirarlo si consideran que es lo mejor para usted. También pueden decidir retirarlo por las siguientes causas: Si no desea participar en el proyecto, si no se cumplen los criterios de inclusión y exclusión durante la fase de la investigación.

14) ¿Me pagarán por participar?

No se le pagará por su participación en este estudio. Sólo se le cubrirán los materiales necesarios para la toma de muestras, en este caso un recipiente hermético de tapa rosca de plástico.

15) ¿Cómo mantendrán la confidencialidad de mis datos personales? ¿Cómo harán para que mi identidad no sea conocida?

Los datos que lo identifiquen serán tratados en forma confidencial como lo exige la Ley. Salvo para quienes estén autorizados a acceder a sus datos personales, Ud. no podrá ser identificado y para ello se le asignará un código alfanumérico para mantener el anonimato los datos personales registrados, en base a la fecha de recolección de la muestra y orden establecido, como se explica a continuación. *Ejemplo de codificación:* AAA/mm/dd-Orden secuencial. 20250801-001. En caso de que los resultados de este estudio sean publicados en revistas médicas o presentados en congresos médicos, su identidad no será revelada.

El titular de los datos personales (o sea usted) tiene la facultad de ejercer el derecho de acceso a los mismos en forma gratuita a intervalos no inferiores a seis meses, salvo que se acredite un interés legítimo al efecto conforme lo establecido en la Ley, tiene la atribución de atender las denuncias y reclamos que se interpongan con relación al incumplimiento de las normas sobre protección de datos personales.

16) ¿Quiénes tendrán acceso a mis datos personales?

Como parte del estudio, el Investigador Principal y todo el equipo de investigación tendrán acceso a los resultados de sus estudios, como las pruebas de laboratorio.

17) ¿A quiénes puedo contactar si tengo dudas sobre el estudio y mis derechos como participante en un estudio de investigación?

17.1. **Sobre el estudio:** contactar al Investigador Principal: Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano en Av. Julio Enrique Pardes y Pablo Arturo Suarez o al teléfono 0984070476 – (03) 2511740

17.2. **Sobre sus derechos como participante en un estudio de investigación:**

El presente trabajo de investigación ha sido evaluado por el CISH-UTA. Si Usted tiene alguna pregunta relacionada con sus derechos como participante en la investigación puede contactarse con el Investigador Ana Elizabeth Guamanquispe Rojano en Av. Julio Enrique

SECCIÓN II: CONSENTIMIENTO INFORMADO

A. DECLARATORIA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo _____, declaro que eh leído el documento de consentimiento, que he comprendido los riesgos y beneficios de participar, el responsable ha respondido a todas mis preguntas, mediante explicación satisfactoria, conozco que mi participación es voluntaria, por lo que consiento libremente participar en los procedimientos propuestos en el estudio, sé que tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento, sin que esto afecte las atenciones a las que tengo derecho, solamente debo informar al investigador.

Al firmar el documento de consentimiento informado, en calidad de (participante/representante legal de _____) NO renuncio a ninguno de los derechos que por ley me corresponden. Se le entregará una copia de este documento al participante/representante legal, una vez suscrito el mismo por las partes.

Fecha	Nombres completos del participante	Cédula Identidad	Firma
___/___/___			

Fecha	Nombres completos del investigador responsable de obtener el CI	Cédula Identidad	Firma
___/___/___			

B. DECLARACIÓN DEL ASENTIMIENTO INFORMADO

ASENTIMIENTO INFORMADO

Yo, _____ Nombre del participante representado
Entiendo que la investigación consiste en Caracterizar *Enterobacterales* con betalactamasas de espectro extendido en infecciones urinarias de adultos mayores de la unidad de salud de Pelileo

Entiendo que se analizaran bacterias causantes de infecciones urinarias en adultos mayores evaluando su resistencia a antibióticos mediante cultivos y pruebas bioquímicas. Además, se realizará su caracterización genotípica y se relacionaran con los factores de riesgo, garantizando la confidencialidad de los participantes.

Y sé que puedo elegir participar en la investigación o no hacerlo, así como retirarme cuando quiera. *Se me ha leído la información* y la entiendo. Me han respondido las preguntas y sé que puedo hacer preguntas más tarde, si las tengo.

Por lo antes indicado:

Acepto participar en la investigación ☐

No acepto participar en la investigación ☐

Fecha	Nombres completos del participante	Cédula Identidad	Firma o huella digital
__/__/__			

C. DECLARATORIA DE REVOCATORIA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO:

Yo _____ (nombres completos del sujeto/representante legal de _____ (colocar los nombres completos del representado/a): _____), a pesar de haber aceptado inicialmente que **mis datos personales y/o muestras biológicas humanas** o los de **mi representado/a** sean utilizados en investigaciones **REVOCO** lo antes mencionado, y solicito que **mis datos personales y/o muestras biológicas humanas** o las de **mi representado/a**, así como la información obtenida de los mismo sean eliminados y no se utilicen para ningún fin. Con esta declaratoria no renuncio a los derechos que por ley **me corresponden** o **a los derechos de mi representado/a**.

Fecha	Nombres completos del participante	Cédula Identidad	Firma
__/__/__			

Fecha	Nombres completos del testigo de la revocatoria del CI	Cédula Identidad	Firma
__/__/__			

Fecha	Nombres completos del investigador responsable	Cédula Identidad	Firma
__/__/__			