

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES**  
**CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**



**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

**TEMA:**

**“DETECCIÓN DE CEPAS DE *Escherichia coli* RESISTENTES A  
BETALACTÁMICOS EN LA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUA  
RESIDUAL DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE”**

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Ingeniería en Biotecnología

**Línea de investigación:** Biotecnología, energía y recursos naturales renovables

**AUTORA:**

RUBÍ EMPERATRIZ MOLINA ESPINOZA

**DIRECTOR:**

Blgo. PEDRO MIGUEL BARBA ESTRELLA MSc.

**IBARRA-ECUADOR**

**2025**



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**  
**BIBLIOTECA UNIVERSITARIA**

**AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN**  
**A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**

**1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA**

En cumplimiento del Art. 144 de la Ley de Educación Superior, hago la entrega del presente trabajo a la Universidad Técnica del Norte para que sea publicado en el Repositorio Digital Institucional, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

<b>DATOS DE CONTACTO</b>			
<b>CÉDULA DE IDENTIDAD:</b>	172815743-7		
<b>APELLIDOS Y NOMBRES:</b>	Molina Espinoza Rubí Emperatriz		
<b>DIRECCIÓN:</b>	Barrio Sucre, Tabacundo		
<b>EMAIL:</b>	<a href="mailto:remoline@utn.edu.ec">remoline@utn.edu.ec</a> <a href="mailto:rubimolina15022@gmail.com">rubimolina15022@gmail.com</a>		
<b>TELÉFONO FIJO:</b>		<b>TELÉFONO MÓVIL:</b>	0988325429

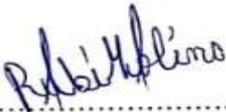
<b>DATOS DE LA OBRA</b>	
<b>TÍTULO:</b>	Detección de cepas de <i>Escherichia coli</i> resistentes a betalactámicos en la planta de tratamiento de agua residual de la Universidad Técnica del Norte
<b>AUTOR (ES):</b>	Molina Espinoza Rubí Emperatriz
<b>FECHA: DD/MM/AAAA</b>	29/07/2025
SOLO PARA TRABAJOS DE GRADO	
<b>PROGRAMA:</b>	<input checked="" type="checkbox"/> <b>PREGRADO</b> <input type="checkbox"/> <b>POSGRADO</b>
<b>TÍTULO POR EL QUE OPTA:</b>	Ingeniería en Biotecnología
<b>ASESOR /DIRECTOR:</b>	Blgo. Pedro Miguel Barba Estrella MSc.

### CONSTANCIAS

El autor manifiesta que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrollo, sin los derechos de autores terceros, por lo tanto, la obra es original y es el titular de los derechos patrimoniales, por lo que asume la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 29 días del mes de Julio del 2025

### EL AUTOR



.....  
Rubí Emperatriz Molina Espinoza

C.C.: 172815743-7

**CERTIFICACIÓN DIRECTOR DEL TRABAJO DE  
INTERGRACIÓN CURRICULAR**

Ibarra, 29 de Julio de 2025

Blgo. Pedro Barba. MSc

DIRECTOR/A DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

CERTIFICA:

Haber revisado el presente informe final del trabajo de Integración Curricular, el mismo que se ajusta a las normas vigentes de la Universidad Técnica del Norte; en consecuencia, autorizo su presentación para los fines legales pertinentes.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Pedro Barba", is written over a horizontal dotted line. To the left of the signature is a small circled number "1".

*Blgo. Pedro Barba MSc.*

*C.C.: 1716751183*

## APROBACIÓN DEL COMITÉ CALIFICADOR

El Comité Calificado del trabajo de Integración Curricular “DETECCIÓN DE CEPAS DE *Escherichia coli* RESISTENTES A BETALACTÁMICOS EN LA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUAL DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE” elaborado por Rubí Emperatriz Molina Espinoza, previo a la obtención del título de Ingeniería en Biotecnología, aprueba el presente informe de investigación en nombre de la Universidad Técnica del Norte

(f): 

Blgo. Pedro Miguel Barba Estrella Msc.

C.C.: 1716751183

(f): 

Ing. Carla Alexandra Sandoval Guano Msc.

C.C.: 1718017294

## PRESENTACIÓN

Yo, Rubí Emperatriz Molina Espinoza, como autor de la Tesis Titulada **Detección de cepas de *Escherichia coli* resistentes a betalactámicos en la planta de tratamiento de agua residual de la Universidad Técnica del Norte**, me hago responsable de los resultados, discusión, conclusiones y demás parte de la investigación; y pongo este documento como fuente de apoyo para consultas dirigidas a todos los estudiantes.

## AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer a Dios, por darme sabiduría y vida para alcanzar este logro.

A mis mamis en el cielo, por ser mis guías espirituales, mis ángeles que me bendicen cada día.

Agradezco a mi tutor, Blg. Pedro Barba, por apoyarme durante este proceso, por su paciencia y compartir sus conocimientos, por su ayuda constante. A mi asesor Ingeniera Carlita Sandoval, por su ayuda y sabiduría.

Agradezco a la persona más importante de mi vida, mi motivación diaria para seguir, por ser mi fuente de inspiración y acompañarme durante este proceso, mi pequeño Cristhian.

A mi amigo, compañero y pareja, Rodrigo, por siempre confiar en mí, por hacerme sentir capaz, por esforzarse a diario y brindarme su apoyo incondicional.

A mi papi José Molina, por ser un ejemplo de lucha y constancia, a mis hermanos y hermanas, especialmente Paty y Margarita por ser un apoyo fundamental. A mi suegra, Rosa, por su ayuda y compañía.

A las personas que han hecho de esta etapa una experiencia muy bonita, por las risas, por su apoyo invaluable, mis amigas Gabriela Valenzuela, Melany López y Nicol Guasgua, a mi amigo, por brindarme su ayuda y soportarme Cristian Pambaquishpe. A las personas que me brindaron su ayuda y tiempo en todo momento Evelyn Ramos y Camila Mina.

Al cuerpo de docentes de Biotecnología por compartir sus conocimientos y sabiduría, durante el tiempo de duración de la carrera.

## LISTA DE SIGLAS

**RAM:** Resistencia a Antimicrobianos

**CLSI:** *Clinical Laboratory Standards Institute*

**TSI:** Agar Triple Azúcar Hierro

**SIM:** Medio Sulfhídrico Indol Movilidad

**BLEE:** Betalactamasas de Espectro Extendido

**UFC:** Unidades Formadoras de Colonias

**PTAR:** Planta de Tratamiento de Agua Residual

**GAD:** Gobiernos Autónomos Descentralizados

**UIC:** Unidades de Cuidados Intensivos

**ARB:** Bacterias Resistentes a Antibióticos

**ARG:** Genes de Resistencia a Antibióticos

**MDR:** Multidrogorresistencia

**DDST:** Prueba de Sinergia de Doble Disco

**PBP:** Proteínas Transportadoras de Penicilina

## ÍNDICE DE CONTENIDO

APROBACIÓN DEL COMITÉ CALIFICADOR.....	V
PRESENTACIÓN .....	VI
AGRADECIMIENTO.....	VII
LISTA DE SIGLAS .....	VIII
ÍNDICE DE CONTENIDO .....	9
ÍNDICE DE FIGURAS .....	11
ÍNDICE DE TABLAS .....	12
ÍNDICE DE ANEXOS .....	13
RESUMEN .....	14
ABSTRACT .....	15
CAPÍTULO I .....	16
1. INTRODUCCIÓN.....	16
1.1 Planteamiento del problema.....	16
1.2 Justificación.....	18
1.3 Objetivos.....	20
1.3.1 Objetivo general.....	20
1.3.2 Objetivos específicos.....	20
1.4 Pregunta de investigación .....	20
CAPÍTULO II.....	21
2. MARCO TEÓRICO .....	21
2.1 Antibióticos.....	21
2.1.1 Betalactámicos: tipos y usos .....	22
2.2 Resistencia antimicrobiana.....	25
2.2.1 Mecanismos de resistencia .....	25
2.3 Resistencia bacteriana en ambientes acuáticos.....	27
2.3.1 Aguas residuales como reservorio de bacterias resistentes .....	28
2.4 Escherichia coli.....	31
CAPÍTULO III .....	33
3. METODOLOGÍA .....	33
3.1 Descripción del área de estudio .....	33
3.2 Ejecución del primer objetivo.....	34
3.2.1 Recolección de muestras .....	34
3.2.2 Procesamiento de muestras .....	34
3.2.3 Recuento de colonias y aislamiento de E. coli resistentes a cefotaxima ..	35

3.2.4 Identificación fenotípica de <i>E. coli</i> .....	35
3.2.4.1 Identificación morfológica por tinción de Gram .....	35
3.2.5 Identificación de <i>E. coli</i> mediante pruebas bioquímicas .....	35
3.2.5.1 Agar Triple Azúcar Hierro (TSI).....	36
3.2.5.2 Medio Sulhídrico indol movilidad SIM.....	36
3.2.5.3 Agar Simmons Citrato .....	37
3.2.6 Conservación de aislados .....	37
3.3 Ejecución del segundo objetivo.....	37
3.3.1 Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana .....	37
3.3.1.1 Preparación de medio y estandarización de Inóculos .....	37
3.3.1.3 Elaboración del Antibiograma .....	37
3.3.1.4 Establecimiento del perfil de susceptibilidad según la guía del Clinical Laboratory Standards Institute CLSI .....	39
3.3.2 Evaluación de la producción de BLEE mediante pruebas de sinergia de doble disco (DDST) .....	39
3.4 Análisis Estadístico .....	39
CAPÍTULO IV.....	41
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	41
4.1 Aislamiento y recuento de bacterias.....	41
4.2 Confirmación de la especie bacteriana <i>Escherichia coli</i> .....	46
4.2.1 Pruebas fenotípicas: Tinción de Gram.....	46
4.2.2 Pruebas bioquímicas .....	46
4.3 Perfil de susceptibilidad a antibióticos en aislados de <i>Escherichia coli</i> .....	47
4.4 Multirresistencia .....	52
4.5 Prueba de sinergia de doble disco para identificación fenotípica de Betalactamasas de espectro extendido (BLEE).....	54
CAPÍTULO V .....	58
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	58
5.1 Conclusiones.....	58
5.2 Recomendaciones.....	59
REFERENCIAS .....	60
ANEXOS .....	72

## ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1. Anillo betalactámico.....</i>	<i>22</i>
<i>Figura 2. Ubicación de la PTAR-UTN .....</i>	<i>30</i>
<i>Figura 3. Esquema de la planta de tratamiento de agua residual UTN .....</i>	<i>33</i>
<i>Figura 4. Recuento de E. coli totales y resistentes a cefotaxima para septiembre y octubre .....</i>	<i>42</i>
<i>Figura 5. Ratio de resistencia bacteriana para septiembre y octubre.....</i>	<i>45</i>
<i>Figura 6. Porcentaje de resistencia para cada antibiótico durante septiembre y octubre .....</i>	<i>48</i>
<i>Figura 7. Perfil de susceptibilidad de los aislados por familias de antibióticos para septiembre y octubre .....</i>	<i>51</i>
<i>Figura 8. Identificación fenotípica de BLEE: A) reacción negativa para producción de BLEE, B) reacción positiva para la producción de BLEE.....</i>	<i>55</i>
<i>Figura 9. Aislados de E. coli positivos para la producción de Betalactamasas de espectro extendido (BLEE) .....</i>	<i>55</i>
<i>Figura 10. Aislados positivos para BLEE, según el punto de muestreo, en cada mes estudiado .....</i>	<i>57</i>

## ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Mecanismos de acción frente al patógeno según el grupo de antibiótico</i> .....	21
<i>Tabla 2. Clasificación de las penicilinas según su espectro de acción.....</i>	23
<i>Tabla 3. Clasificación de las cefalosporinas según su generación y espectro de acción .....</i>	24
<i>Tabla 4. Etapas de Tratamiento de las plantas de tratamiento .....</i>	29
<i>Tabla 5. Parámetros para identificación de E. coli mediante pruebas bioquímicas.....</i>	36
<i>Tabla 6. Criterio de interpretación de la zona de inhibición según el CLSI 2024</i> .....	38
<i>Tabla 7. Perfil de susceptibilidad de los aislados de septiembre. N:9 aislados por cada punto de muestreo.....</i>	49
<i>Tabla 8. Perfil de susceptibilidad de los aislados de octubre.....</i>	50
<i>Tabla 9. Porcentaje de resistencia en los cuatro puntos de muestreo para septiembre y octubre .....</i>	52
<i>Tabla 10. Patrones de resistencia a diferentes familias de antibióticos de los aislados de septiembre y octubre.....</i>	53

## ÍNDICE DE ANEXOS

<i>Anexo 1. Análisis estadístico de recuentos de E. coli total (en medio TBX) por punto de muestreo y mes.....</i>	<i>72</i>
<i>Anexo 2. Análisis estadístico de recuentos de E. coli total (en medio TBX+ CTX) por punto de muestreo y mes.....</i>	<i>73</i>
<i>Anexo 3. - Mapa de calor de los aislados de septiembre (S) y octubre (O). Se muestra los 16 antibióticos evaluados Ciprofloxacino (CIP), Levofloxacina (LEV), Cefepima (FEP), Cefotaxima (CTX), Ceftazidima (CAZ), Amoxicilina/ácido clavulánico (AMC), Piperacilina/tazobactam (TZP), Cefoxitina (FOX), Ertapenem (ETP), Tetraciclina (TE), Amikacina (AK), Gentamicina (CN), Tigeciclina (TGC), Fosfomicina/trometamol (FOT), Nitrofurantoina (F) y Sulfametoxazol/trimetoprima (SXT). Se asigna un color a las zonas de inhibición: Verde para sensible (S), anaranjado para intermedio (I), verde menta para susceptible dependiente de la dosis (SDD) y rojo para resistente (R).....</i>	<i>74</i>

## RESUMEN

Las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) constituyen focos críticos para la diseminación de bacterias resistentes a antimicrobianos (RAM), como *Escherichia coli* productora de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), cuya presencia en los efluentes representa un riesgo ambiental y sanitario significativo. El objetivo del presente estudio fue evaluar la presencia de *E. coli* BLEE en la PTAR de la Universidad Técnica del Norte. Se realizó un muestreo por triplicado recolectando 100 ml de agua residual en cuatro puntos de la planta (entrada, tanque de oxidación, filtro de ripio y salida) durante septiembre y octubre de 2024. Las muestras se procesaron mediante filtración por vacío con filtros de celulosa de 0.45  $\mu\text{m}$ , seguido de diluciones seriadas hasta  $10^{-3}$ . Los filtros se cultivaron en agar TBX y TBX suplementado con cefotaxima (4  $\mu\text{g/ml}$ ). El perfil de susceptibilidad a 16 antibióticos se evaluó mediante el método Kirby-Bauer según las directrices del CLSI. La producción de BLEE se confirmó mediante pruebas de sinergia de doble disco (DDST) con ácido clavulánico.

Se recuperaron 72 aislados de *E. coli* resistentes a cefotaxima. El 68% de los aislados fueron positivos para BLEE mediante DDST. El 100% de las cepas presentaron multirresistencia, identificándose 33 patrones diferentes, siendo los más prevalentes: C, T, GC, F, S (15.28%), C, T, GC, S (12.50%) y Q, C, T, GC, F, S (9.72%). Se observó mayor resistencia a sulfamidas (97.22%), cefalosporinas de tercera generación (95.83%) y tetraciclinas (93.75%), mientras que los carbapenémicos mostraron la mayor efectividad con solo 2.78% de resistencia. Los resultados evidenciaron que los procesos actuales de tratamiento en la PTAR-UTN no eliminan eficientemente las bacterias resistentes, sugiriendo la necesidad urgente de implementar tratamientos terciarios y protocolos de vigilancia continua. Estos hallazgos resaltan el papel crítico de las PTAR como reservorios de RAM y la urgencia de mejorar los procesos de tratamiento para mitigar la diseminación de resistencia antimicrobiana en el ambiente.

**Palabras clave:** *E. coli*, BLEE, multirresistencia, aguas residuales, betalactámicos, PTAR

## ABSTRACT

Wastewater treatment plants (WWTPs) constitute critical hotspots for the dissemination of antimicrobial-resistant (AMR) bacteria, such as *Escherichia coli* producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBL), whose presence in effluents represents a significant environmental and health risk. The aim of this study was to evaluate the presence of ESBL-producing *E. coli* in the WWTP of Universidad Técnica del Norte.

Triplicate sampling was conducted by collecting 100 ml of wastewater at four plant points (input, oxidation tank, gravel filter, and output) during September and October 2024. Samples were processed by vacuum filtration using 0.45  $\mu\text{m}$  cellulose filters, followed by serial dilutions up to  $10^{-3}$ . Filters were cultured on TBX agar and TBX supplemented with cefotaxime (4  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ). *E. coli* species confirmation was performed through Gram staining and biochemical tests (TSI, SIM, Simmons Citrate). Susceptibility profiles to 16 antibiotics were evaluated using the Kirby-Bauer method according to CLSI guidelines. ESBL production was confirmed through double-disk synergy tests (DDST) with clavulanic acid.

A total of 72 cefotaxime-resistant *E. coli* isolates were recovered. Sixty-eight percent of isolates were ESBL-positive by DDST. One hundred percent of strains exhibited multidrug resistance, with 33 different patterns identified, the most prevalent being: C, T, GC, F, S (15.28%), C, T, GC, S (12.50%), and Q, C, T, GC, F, S (9.72%). Higher resistance was observed to sulfonamides (97.22%), third-generation cephalosporins (95.83%), and tetracyclines (93.75%), while carbapenems showed the highest effectiveness with only 2.78% resistance.

Results demonstrated that current treatment processes at UTN-WWTP do not efficiently eliminate resistant bacteria, suggesting the urgent need to implement tertiary treatments and continuous surveillance protocols. These findings highlight the critical role of WWTPs as AMR reservoirs and the urgency to improve treatment processes to mitigate antimicrobial resistance dissemination in the environment.

**Keywords:** *E. coli*, ESBL, multidrug resistance, wastewater, beta-lactams, WWTP

# CAPÍTULO I

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 Planteamiento del problema

El agua es un recurso esencial para la vida, sin embargo, presenta alta concentración de contaminantes emergentes de origen industrial, agrícola, hospitalario y doméstico, lo cual desencadena problemas para la salud humana y el ambiente (Choudhary et al., 2020). Según la UNESCO (2024), 3500 millones de personas sufren de falta de agua segura para el consumo humano y agrícola. Para hacer frente a esta problemática, las plantas de tratamiento de agua residual (PTAR), se plantean como una alternativa sostenible para satisfacer la demanda de agua, dotando de agua para riego al 35% de la población mundial (Adhikari & Halden, 2022). En Ecuador, el 70,1% de Gobiernos Autónomos Descentralizados Municipales (GAD Municipales), han implementado plantas de tratamiento para gestionar las aguas residuales de sus cantones (INEC, 2020).

Sin embargo, la mayoría de las PTARs carecen de mecanismo que intervengan en la propagación biológica y química de contaminantes (Uluseker et al., 2021). Es así que las aguas residuales se convierten en reservorios para la resistencia a antimicrobianos (RAM), debido a que en estas aguas se encuentran altas concentraciones de antibióticos no metabolizados o parcialmente metabolizados, desechos de la terapia animal y humana (Amador et al., 2015; Tellez-Carrasquilla et al., 2023). Estos residuos propician caldos nutritivos para la proliferación bacteriana, por su alto contenido de fuentes de carbono, nitrógeno, fósforo y demás nutrientes necesarios (Grehs et al., 2021; Machado et al., 2023). Por lo cual se ha encontrado presencia de bacterias resistentes a antibióticos (BRA) y genes de resistencia a antibióticos (ARG) en los efluentes de las PTAR (Aslan et al., 2018; Sun et al., 2016)

La resistencia a antimicrobianos representa una de las mayores amenazas al sistema de salud global del siglo XXI. Solo en 2019 se reportó 1,27 millones de muertes a nivel mundial asociadas directamente con este fenómeno (OMS, 2024). Esta problemática tiene mayor impacto en países de bajos recursos económicos donde las tasas de mortalidad se cuatriplican en comparación con países desarrollados (X. Li et al., 2022; Ranjbar & Alam, 2023). Este fenómeno es el resultado de una compleja red de interacciones entre la actividad antropogénica y factores ambientales, que aceleran el proceso evolutivo y la proliferación BRA (Fouz et al., 2020; Triggiano et al., 2020).

Además, las PTARS, por estar ubicadas en entornos urbanos, se han identificado como puntos críticos para la propagación de cepas patógenas, como *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. y *Proteus* spp. resistentes principalmente a tetraciclinas, sulfonamidas, betalactámicos, quinolonas y macrólidos, antibióticos usados para tratar infecciones humanas y no humanas (Paterson, 2006; Wang et al., 2020). Estas cepas permanecen viables hasta 20 Km aguas abajo de los efluentes de las PTARs, a su paso diseminan resistencia a otras especies (Barancheshme & Munir, 2018; Buriánková et al., 2021; J. Li et al., 2016).

En Ecuador, la resistencia antimicrobiana afecta gravemente al sistema hospitalario. Se han identificado aislados resistentes en Unidades de Cuidados Intensivos (UIC). Según los datos del sistema informático WHONET hasta 2017 *E. coli* se identificó como el patógeno con mayor prevalencia, superando el 50% de casos clínicos reportados (INSPI, 2018). Este patógeno puede expresar genes *bla*<sub>CTX-M</sub>, *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub>, productores de β-lactamasas de espectro extendido (BLEE), enzimas que inhiben la efectividad de los antibióticos betalactámicos, al hidrolizar el anillo β-lactámico, confiere resistencia a penicilinas y cefalosporinas (Nguyen et al., 2021). También expresan genes *bla*<sub>KPC</sub> y *bla*<sub>NDM</sub>, que les confiere resistencia carbapenems. Por otro lado, en un paciente

con peritonitis se encontró una cepa de *E. coli* portadora del gen *mcr-1* que confiere resistencia a la colistina, relacionado con contaminación zoonótica de animales de granja (INSPI, 2018; Tamayo Trujillo et al., 2022).

Estudios realizados en la provincia de Imbabura donde se aislaron cepas *E. coli*, se reportó que en el Canal de riego de Cananvalle el 100% de aislados son resistentes a cefotaxima (Armas & Vizcaino, 2023). Mientras que en otro estudio se aisló cepas de *E. coli* de vegetales comercializados en 3 mercados diferentes de Ibarra, se reportó que el 58,33% de aislados son productores de BLEE (Plasencia, 2020)

## **1.2 Justificación**

El aumento desmesurado de bacterias resistentes a antimicrobianos y genes de resistencia en el medio ambiente evidencia la necesidad de vigilar la presencia de BRA en las aguas residuales que se recogen en las plantas de tratamiento y posteriormente se usan para riego de campos (Wengenroth et al., 2021). Actualmente, existe una carencia de estudios informativos que evalúen y garanticen la eficacia de estas instalaciones en la eliminación de microorganismos patógenos durante los procesos depurativos.

En este contexto, resulta fundamental monitorear la presencia de bacterias, como *E. coli* productoras de BLEE en la PTAR de la Universidad Técnica del Norte. Con la finalidad de evaluar la efectividad de los procesos de tratamiento y generar información sobre la calidad del agua tratada. La aplicación de pruebas fenotípicas, como antibiogramas, permite identificar patrones de resistencia, contribuyendo así a una mejor comprensión de la diseminación de BRA y ARG en el medio ambiente, además de crear conciencia sobre el uso responsable de antibióticos (Armijos-Nieves et al., 2017; Rodríguez-Molina et al., 2019; Shin et al., 2022).

Esta investigación a su vez se alinea con importantes iniciativas globales y nacionales, como el Plan de Acción Global contra la Resistencia a los Antimicrobianos

(RAM) de la OMS, específicamente en su objetivo 3, que busca reducir la propagación de infecciones por patógenos resistentes mediante un adecuado saneamiento del agua, al aportar información sobre BRA en la PTAR-UTN (OMS, 2016). A nivel nacional, contribuye al Plan Ecuador Libre de RAM, que busca la vigilancia, control y prevención de RAM en matrices ambientales (MSP, 2024). En el marco de desarrollo sostenible, respalda el Objetivo de Desarrollo Sostenible número 6.3. que busca proporcionar agua segura y libre de contaminantes, identificando los residuos peligrosos.

### **1.3 Objetivos**

#### **1.3.1 Objetivo general.**

Detectar cepas de *Escherichia coli* resistentes a betalactámicos en la planta de tratamiento de agua residual UTN.

#### **1.3.2 Objetivos específicos**

- Aislar cepas de *Escherichia coli* de la planta de tratamiento de agua residual UTN.
- Evaluar el perfil de susceptibilidad a antibióticos betalactámicos de las cepas aisladas mediante antibiogramas.

### **1.4 Pregunta de investigación**

¿Existen cepas de *E. coli* resistentes a betalactámicos en la planta de tratamiento de agua residual de la UTN?

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Antibióticos

Los antibióticos son agentes químico-terapéuticos usados para tratar infecciones bacterianas en humanos y animales desde la década de los 40 (Ventola, 2015). Pueden tener acción bactericida o bacteriostático (Calvo & Martínez-Martínez, 2009). Existen diferentes clasificaciones para los antibióticos, sin embargo la más común es por el mecanismo de acción frente al patógeno y su estructura química como se muestra en la Tabla 1 (Uluseker et al., 2021).

**Tabla 1.-**

*Mecanismos de acción frente al patógeno según el grupo de antibiótico.*

<i>Mecanismo de acción</i>	<i>Grupo de antibiótico</i>
<i>Inhibición de la formación de pared bacteriana</i>	<b>Betalactámicos, glucopéptidos, fosfomicinas y bacitracina</b>
<i>Inhibidores de la membrana citoplasmática</i>	<b>Polimixinas, lipopéptidos e ionóforos</b>
<i>Inhibidores de la síntesis proteica</i>	<b>Aminoglucósidos, tetraciclinas, macrólidos, cloranfenicol, lincosamidas, oxazolidinonas, estreptogramina</b>
<i>Inhibición o alteración de los ácidos nucleicos</i>	<b>Quinolonas, glicilciclinas, tetraciclinas.</b>
<i>Antimetabolitos</i>	<b>Nitrofuranos, sulfamidas, diaminopirimidinas</b>
<i>Inhibidores de betalactamasas</i>	<b>Sulbactam, ácido clavulánico y tazobactam</b>

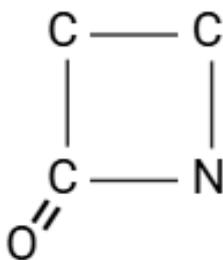
*Nota:* Elaborado a partir de la información de “Mecanismos de acción de los antimicrobianos” (Calvo & Martínez-Martínez, 2009) y “Antibiotic classification, mechanisms, and indications: A review” (Haddad et al., 2024).

### 2.1.1 Betalactámicos: tipos y usos

Presentan un anillo betalactámico (Figura 1), actúan sobre las enzimas denominadas proteínas transportadoras de penicilina (PBP), impidiendo la formación de la pared celular lo cual provoca lisis celular (Davis, 2018). En la actualidad son el grupo más usado para hacer frente a bacterias patógenas, por su alta eficacia y baja toxicidad en los humanos, representan el 65% de antibióticos prescritos por los sistemas de salud (Bush & Bradford, 2016).

#### Figura 1.-

*Anillo Betalactámico*



*Nota: El gráfico muestra el anillo heterocíclico de los betalactámicos, formado por 3 átomos de carbono y 1 átomo de nitrógeno.*

Al unirse los radicales al anillo betalactámico, se originan diferentes subgrupos, entre los principales se encuentran:

1. **Penicilinas:** derivadas del hongo *Penicillium*, efectivas principalmente contra bacterias Gram positivas, también tienen actividad contra algunas Gram negativas. Se utilizan comúnmente para tratar infecciones respiratorias y de la piel, otitis, entre otras (Marín & Gudío, 2003; Suárez & Gudíol, 2009). La Tabla 2 muestra la clasificación de las penicilinas según su actividad antibacteriana.

**Tabla 2.-**

*Clasificación de las penicilinas según su espectro de acción*

Clase	Subtipo	Espectro de Acción	Características
Penicilinas	Naturales	Gram positivas y Gram negativas	Sensibles a betalactamasas, útiles en infecciones leves
	Resistentes a betalactamasas	Gram positivas especialmente <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a betalactamasas	Resistente a betalactamasas, no son efectivas contra Gram negativas.
	Aminopenicilinas o semisintéticas	Gram positivas y Gram negativas	Mayor efectividad contra Gram negativas; sensibles a betalactamasas.

*Nota:* Elaborado con información de “Los betalactámicos en la práctica clínica” (Gómez et al., 2015) y “Penicilinas” (Mendoza P., 2006).

- 2. Cefalosporinas:** son antibióticos semisintéticos derivados del ácido cefalosporínico, con una estructura similar a la de las penicilinas. Como se muestra en la Tabla 3, se clasifican en generaciones según su espectro y resistencia a betalactamasas, que les permite penetrar mejor en los tejidos (Gómez et al., 2015; Suárez & Gudiol, 2009).

**Tabla 3.-***Clasificación de las cefalosporinas según su generación y espectro de acción.*

Clase	Generación	Espectro de Acción	Características
Cefalosporinas	1 <sup>a</sup>	Gram positivas y Gram negativas	Útil en infecciones tisulares; sensible a betalactamasas
	2 <sup>a</sup>	Gram positivas y mayor efectividad en Gram negativas	Mayor resistencia a betalactamasas; útiles profilaxis e infecciones respiratorias. Sensibles a betalactamasas
	3 <sup>a</sup>	Gram positivas y muchas Gram negativas	Mayor resistencia a betalactamasas; útiles para tratar meningitis y sepsis.
	4 <sup>a</sup>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> y Gram negativas resistentes	Mayor estabilidad frente a betalactamasas; usadas en infecciones nosocomiales.
	5 <sup>a</sup>	Gram positivas incluido MRSA y algunas Gram negativas	Efectiva contra <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina; uso en infecciones graves.

*Nota:* Elaborado con información de “Los betalactámicos en la práctica clínica” (Gómez et al., 2015) y “Descripción general de los principales grupos de fármacos antimicrobianos. Antibióticos” (Esparza, 2008).

3. **Carbapenemes:** son antibióticos de amplio espectro, muy resistentes a betalactamasas. Se utilizan en infecciones graves o complicadas, como sepsis y neumonía, son considerados tratamientos de última línea debido a su eficacia contra patógenos Gram positivos, Gram negativos y multirresistentes (Esparza, 2008; Suárez & Gudiol, 2009).
4. **Monobactámicos:** formados por un único anillo, tienen espectro de actividad contra bacterias Gram negativas. Son útiles en pacientes alérgicos a penicilinas y

cefalosporinas, por presentar menor reactividad cruzada (Esparza, 2008; Marín & Gudio, 2003).

5. **Inhibidores de betalactamasas:** no son antibióticos por si solos, actúan en combinación con los otros betalactámicos (penicilinas y cefalosporinas) para inhibir la acción de enzimas betalactamasas (Esparza, 2008; Gómez et al., 2015).

## **2.2 Resistencia antimicrobiana**

La resistencia a antibióticos es un fenómeno evolutivo y adaptativo por el cual los microorganismos desarrollan mecanismos de defensa para inhibir la acción de los antibióticos, este proceso ocurre mediante la relación antibiótico-bacteria (Coque et al., 2023; Grehs et al., 2021).

La resistencia puede presentarse de forma intrínseca cuando es una adaptación propia de la bacteria, o como resistencia adquirida cuando es por la integración de genes o mutaciones en el ADN (Grehs et al., 2021). Entre los mecanismos adquiridos se encuentra la transferencia horizontal que permite el intercambio de material genético entre especies, mediante tres procesos: conjugación donde se transfiere material genético mediante un puente citoplasmático; transformación, proceso en el que la bacteria toma ADN del medio y lo incorpora en su genoma, y la transducción, donde se trasfiere material genético mediante una bacteriófago (Mathers et al., 2015).

### **2.2.1 Mecanismos de resistencia**

Los diferentes mecanismos de resistencia ocurren debido a la presencia de genes de resistencia (AGR), estas secuencias de ADN confieren a los organismos la capacidad de resistir la acción de agentes antimicrobiano (Yauri Bucheli, 2021). Los AGR permiten a las bacterias desarrollar resistencia a múltiples fármacos, al aumentar la producción de enzimas que inactivan el antibiótico, alterar el sitio diana del fármaco, o disminuir la

permeabilidad de la membrana celular (Alarcon & Omenaca, 2004; Sánchez Neira et al., 2020).

Las bacterias pueden presentar cuatro mecanismos de resistencia: 1) eliminación del antibiótico mediante bombas de eflujo; 2) alteraciones de la permeabilidad) modificación del objetivo diana del antibiótico y 4) inhibición enzimática, (Pazda et al., 2019; Uluseker et al., 2021).

### **2.2.1.1 Mecanismos de resistencia a betalactámicos**

Entre los principales mecanismos de resistencia para los antibióticos betalactámicos se encuentra: Producción de enzimas, modificación del sitio diana (PBPs) y alteración de la permeabilidad y bombas de eflujo (Suárez & Gudiol, 2009).

#### **2.2.1.1.1 Producción de enzimas**

La producción de enzimas betalactamasas plasmídicas o cromosómicas, es el principal mecanismo de resistencia a betalactámicos, limita las opciones de tratamiento para infecciones bacterianas comunes (Martinez et al., 2020). Se encuentran en diversas especies bacterianas, incluyendo *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* (González et al., 2021).

Las betalactamasas que se codifican por el gen AmpC, pueden ser cromosómicas, principalmente son inducidas al ser expuestas a cefalosporinas, son sensibles a carbapenems y cefalosporinas de cuarta generación (Suárez & Gudiol, 2009). Las betalactamasas AmpC de origen plasmídico, son comunes en Enterobacterias, se encuentran siempre activas debido a una hiperproducción de enzimas AmpC, generan resistencia a cefalosporinas de 1<sup>a</sup>-3<sup>a</sup> generación (Astocondor-Salazar, 2018; Marín & Gudio, 2003).

Las betalactamasas de espectro extendido (BLEE), pueden ser inhibidas por el ácido clavulánico, tazobactam y sulbactam (Daza Pérez, 1998). Hidrolizan penicilinas,

cefalosporinas de 1<sup>a</sup>-3<sup>a</sup> generación y monobactámicos (aztreonam), pero no hidrolizan cefamicinas (cefoxitina), ni carbapenémicos (Astocondor-Salazar, 2018).

Las carbapenemasas, surgen de la mutación repetida de BLEE, es capaz de degradar los antibióticos carbapenémicos (Sawa et al., 2020). Estas enzimas confieren resistencia a todos los betalactámicos.

#### **2.2.1.1.2 Modificación del sitio diana (PBPs)**

Las bacterias generan mutaciones en los genes que codifican las PBP, lo que impide que el antibiótico se fije en las enzimas y ejerza su actividad bactericida, afecta principalmente a cocos Gram positivos (Marín & Gudio, 2003).

#### **2.2.1.1.3 Alteración de la permeabilidad y bombas de eflujo**

Se sobreexpresan los mecanismos de expulsión, volviéndose más efectivos para evitar que los antibióticos puedan unirse a las PBP. También presentan mutaciones en las porinas limitando el ingreso de betalactámicos hidrofílicos al interior de la célula (Dulanto Chiang & Dekker, 2024).

### **2.3 Resistencia bacteriana en ambientes acuáticos**

Los cuerpos de agua son el hábitat de diversos microorganismos nativos e introducidos, sin embargo debido a la actividad antropogénica se han convertido en albergues para contaminantes emergentes constituidos por residuos antibióticos, genes de resistencia y bacterias resistentes (Jimenez Quiceno & Rodríguez, 2023).

El agua un recurso fundamental para la vida, se ha convertido en el principal vector de diseminación de resistencia, debido a que los contaminantes emergentes son altamente solubles, lo que facilita que se propaguen al suelo y vegetación, mediante aguas residuales, fertilizantes a base de lodos, sedimentos, entre otros (Serwecinska, 2020).

La construcción masiva de embalses a nivel global aumenta el tiempo de retención hidráulica, sobreexponiendo a los microorganismos a AGR, BRA y antibióticos no

metabolizados (Chen et al., 2019). Entre el 50 y 90% de antibióticos se excretan mediante la orina y heces, estos residuos someten a las bacterias a concentraciones subinhibitorias, acelerando el proceso evolutivo, así como la transferencia de genes de resistencia entre especies (Bougnom et al., 2019; Serwecinska, 2020).

### **2.3.1 Aguas residuales como reservorio de bacterias resistentes**

Las aguas residuales son los desechos de agua de actividades antropogénicas, ya sea de origen industrial, doméstico, agrícola u hospitalario, siendo este último el de mayor riesgo, por la alta presencia de bacterias resistentes a antibióticos (Jimenez Quiceno & Rodríguez, 2023). Se estima que el 80% de aguas de desecho se vierten al medio sin ser tratadas (Bougnom et al., 2019).

La presencia de contaminantes emergentes en estas aguas, ejercen presión selectiva sobre los microorganismos (Zhang et al., 2020). Estas aguas al estar dotadas de nutrientes se convierten en reservorio para la proliferación bacteriana, propician las condiciones para la formación de biopelículas que les permiten adaptarse mejor al entorno (Tiwari et al., 2022).

#### **2.3.1.1 Rol de las plantas de tratamiento de agua residuales en la diseminación de bacterias resistentes**

Las plantas de tratamiento son instalaciones diseñadas para eliminar contaminantes de aguas residuales mediante procesos químicos, biológicos y físicos (Xia et al., 2018). Por lo general constan de un proceso de cuatro etapas, pretratamiento, tratamiento primario, secundario y terciario, cada una con funciones específicas para garantizar la adecuada remoción de contaminantes como se muestra en la Tabla 4 (Mendez & Sosa, 2019).

#### **Tabla 4.-**

*Etapas de tratamiento de las plantas de tratamiento*

<b>Etapas</b>	<b>Procesos</b>	<b>Características</b>
<b>Pretratamiento</b>	Cribado y tamizado	- Primera barrera de protección
	- Desarenado	- Remoción de materiales gruesos
	- Desengrasado	- Procesos principalmente físicos
	- Remoción de sólidos flotantes	- Protege equipos posteriores - Operación continua
<b>Tratamiento Primario</b>	Clarificación	- Eliminación física de sólidos sedimentables
	- Coagulación-floculación	- Remoción de sólidos suspendidos (50-70%)
	- Sedimentación	- Reducción de DBO <sub>5</sub> (25-40%)
	- Flotación	- Procesos fisicoquímicos - Generación de lodos primarios
<b>Tratamiento Secundario</b>	- Lodos activados	- Procesos biológicos predominantes
	- Filtros biológicos	- Reducción de carga orgánica soluble
	- Reactores anaeróbicos	- Remoción de DBO <sub>5</sub> y DQO (80-95%)
	- Flotación por aire disuelto (DAF) - Sedimentación secundaria	- Actividad microbiana controlada - Producción de lodos secundarios
<b>Tratamiento Terciario</b>	Filtración avanzada	- Pulimento final del efluente
	- Adsorción en carbón activo	- Remoción de contaminantes específicos
	- Intercambio iónico	- Calidad para reutilizar especializado
	- Ósmosis inversa	- Cumplimiento normativo estricto
	- Desinfección (UV, ozono, cloro) - Remoción de nutrientes	- Tecnologías avanzadas especializadas

*Nota:* Elaborado con información de “Propuestas de mejora para la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) de una empresa del sector cosmético” (Mendez & Sosa, 2019) y “Design and implementation of a treatment system Wastewater” (Chávez, 2017).

Estas instalaciones son cruciales para la protección del medio ambiente y la salud pública, sin embargo pueden ser un problema si no se gestionan de forma correcta

(Martínez & Villalobos, 2008). El efluente tratado puede contaminar cuerpos de agua cercanos, suelos y otros ecosistemas (Alós, 2015), convirtiéndose en fuentes significativas de descarga de antibióticos al medio ambiente, que actúan como agentes de selección para proliferar bacterias resistentes a las comunidades aledañas (Cachopo, 2015).

Para mitigar la propagación de BRA, resultado de las plantas depuradoras de agua, el aplicar métodos terciarios de descontaminación como la filtración por membrana, con arena o con carbón activado, permite obtener aguas más seguras para la industria y agricultura (Kalli et al., 2023).

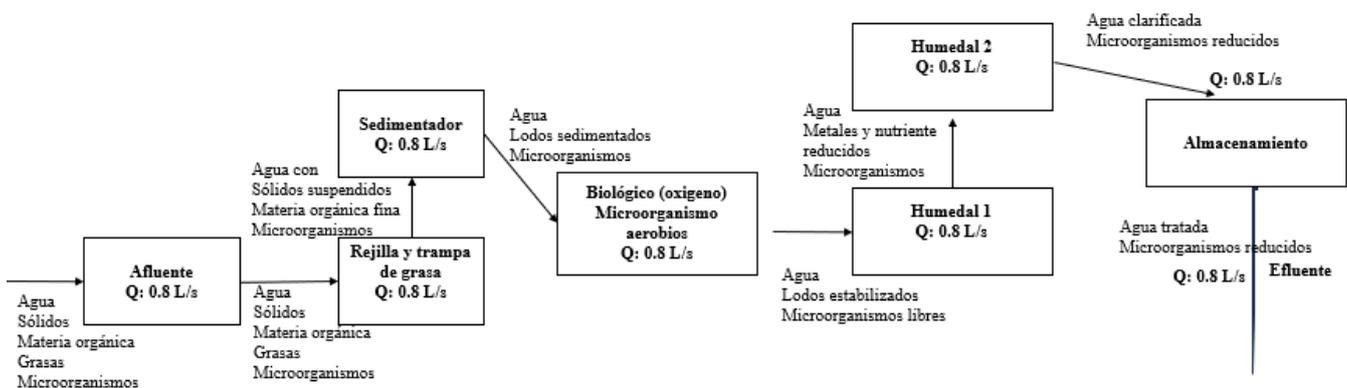
### 2.3.1.1.2 Planta de tratamiento de la Universidad Técnica del Norte (PTAR-UTN)

La planta de tratamiento de la Universidad del Norte, implementada para satisfacer la demanda de agua para riego en el Campus de Ingeniería Textil-Azaya, está diseñada como se muestra en la Figura 2, en donde se recolecta aguas residuales de origen domestico de 85 familias de la Parroquia el Sagrario (Villarreal, 2015).

**Figura 2.-**

*Estructura de la PTAR-UTN y sus operaciones unitarias*

*Nota:* Se muestra el caudal medio de funcionamiento de la planta de tratamiento.



Elaborado a partir de “DISEÑO PARA LA IMPLEMENTACIÓN DEL SISTEMA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES EN EL ESTADIO DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE, CANTÓN IBARRA PROVINCIA IMBABURA” (Villarreal, 2015).

La evaluación de parámetros fisicoquímicos del agua que se trata en la PTAR-UTN, presentan una Demanda Química de Oxígeno (DQO) de 192 mg/L y una Demanda Biológica de Oxígeno (DBO) de 70 mg/L. Además, los niveles de nitratos son 5.20 mg/L, fósforo total 3.2 mg/L, nitrógeno total 57 mg/L, y fosfatos 9.8 mg/L. En cuanto a contaminación microbiológica, la muestra presenta un alto porcentaje de *E. coli* con 300,000 células/ml y coliformes totales con 840,000 células/m (Pozo, 2020)

#### **2.4 *Escherichia coli***

Es una bacteria Gram negativa, perteneciente a la familia Enterobacteriaceae, que habita en el tracto gastrointestinal de animales y humanos. Tiene forma de bacilo, es anaerobia facultativa con un metabolismo fermentador (Abramo et al., 2012; Vila et al., 2016). *E. coli* se considera un organismo modelo para la ciencia por los diversos estudios realizados a nivel químico, biológico y ecológico (Aguillón et al., 2021).

*E. coli* puede desarrollar resistencia antimicrobiana, incluyendo multirresistencia, a través de diversos mecanismos, siendo uno de los más importantes la producción de Betalactamasas de espectro extendido (BLEE)(Aguilar Zapata, 2015). Si bien la mayoría de las cepas de *E. coli* son comensales inofensivas, ciertos patotipos pueden causar diversas infecciones como gastroenteritis, infecciones del tracto urinario, bacteriemia, neumonía, meningitis neonatal, entre otras (Galindo-Méndez, 2020).

En el contexto de las plantas de tratamiento, *E. coli* representa un indicador clave de contaminación fecal y un reservorio importante de genes de resistencia antimicrobiana que pueden transferirse a otras bacterias en el ambiente acuático (Chacón Jiménez et al., 2021). Aunque las PTAR logran eficiencias de remoción de hasta 95,4% para coliformes, el porcentaje remanente en los efluentes considerando los grandes volúmenes

descargados diariamente, constituyen un riesgo sanitario y ambiental importante (Martinez et al., 2020).

## CAPÍTULO III

### 3. METODOLOGÍA

#### 3.1 Descripción del área de estudio

Se identificó la estructura y funcionamiento de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la Universidad Técnica del Norte (PTAR-UTN), ubicada en el Campus Planta Textil Azaya-UTN, en el Corredor Periférico Norte y Av. 13 de abril, como indica la Figura 3.

#### Figura 3.-

*Mapa de localización de puntos de muestreo en la PTAR-UTN.*



Los análisis de las muestras de agua se realizaron en los laboratorios de Biotecnología Aplicada del Campus San Vicente de Paúl de la Universidad Técnica del Norte [0° 20'49.3" N 78°06'49.2" W].

## **3.2 Ejecución del primer objetivo**

### **3.2.1 Recolección de muestras**

Tras identificar la estructura de la PTAR-UTN, se seleccionó cuatro puntos de muestreo basados en las etapas del proceso de tratamiento: el tanque de entrada (E), piscina de oxigenación (O), piscina de ripio (R) y piscina de almacenamiento de agua tratada (S), como se muestra en la Figura 3.

Utilizando frascos estériles de 100 ml, se realizó un muestreo por triplicado a una profundidad de 0.3 m, en los cuatro puntos de estudio (Aslan et al., 2018). Se trasladó las muestras en refrigeración al Laboratorio de Biotecnología Aplicada, para ser analizadas (Bergeron et al., 2015). Se tomó una muestra mensual durante los meses de Septiembre y Octubre, entre las 8 y 9 am, (Q. Li et al., 2019).

### **3.2.2 Procesamiento de muestras**

Se dejó reposar las muestras por 0.5 h para sedimentar los sólidos. Se realizó diluciones seriadas hasta alcanzar diluciones de  $10^{-3}$ , con cada una de las 12 muestras colectadas por mes. Se tomó 1ml de la muestra y se lo diluyó en 9 ml de agua estéril. (Aristizábal-Hoyos et al., 2019).

Se realizó filtración al vacío utilizando el equipo Roker 300 ®, con ayuda de filtros de membrana MS® de 0,45 µm de diámetro de poro (Aslan et al., 2018). Se agregó 20 ml de agua estéril y posteriormente se colocó los 10 ml de la dilución previamente homogenizados en el vortex (Abreu, 2020). Este proceso se realizó por duplicado, utilizando las diluciones  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ , de todas las muestras.

Se tomó los filtros con pinzas estériles y se colocó en la superficie de las placas de Petri con el Agar Cromogénico *E. coli* Tryptone Bile X-Glucuronide TM® (TBX) y en placas de Petri con agar TBX suplementadas con 4 µg/ml de cefotaxima (CTX),

evitando que quede espacios con aire. Se incubó un total de 48 placas mensuales en posición invertida por 24 h a 35 °C (Clark Appling et al., 2023).

### **3.2.3 Recuento de colonias y aislamiento de *E. coli* resistentes a cefotaxima**

Se realizó un recuento a contra luz de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) que crecieron de un color verde metálico en las placas con medio TBX y TBX+CTX (Schwermer et al., 2018). Se obtuvo la proporción de colonias de *E. coli* resistentes a CTX, frente a colonias susceptibles a CTX, utilizando la Ecuación 1 (Aslan et al., 2018).

$$\%resistentes = \frac{E.coli \text{ resistentes a betalactámicos}}{E.coli \text{ totales}} * 100 \quad \text{Ec. 1}$$

De las placas de Petri con medio suplementado con CTX, donde se sembró las diluciones 10<sup>-3</sup>, se tomó con un asa estéril 3 colonias al azar, y se sembró en nuevas placas de TBX+ CTX, para obtener cultivos axénicos. Se dejó incubar por 24 horas a 35 °C (Paśmionka et al., 2021).

### **3.2.4 Identificación fenotípica de *E. coli***

#### **3.2.4.1 Identificación morfológica por tinción de Gram**

Se realizó una prueba de tinción de Gram, para identificar la morfología bacteriana siguiendo el protocolo estándar, aplicando secuencialmente cristal violeta, Lugol, alcohol-acetona y safranina, con lavados intermedios entre cada reactivo (Bernaitis et al., 2024). Las muestras se observaron al microscopio óptico con objetivos de 40x y 100x utilizando aceite de inmersión, identificándose bacilos Gram negativos con morfología característica de *E. coli*, teñidas de color rosado-rojizo.

### **3.2.5 Identificación de *E. coli* mediante pruebas bioquímicas**

Las colonias aisladas identificadas con morfología característica de *E. coli* en la tinción de Gram, fueron seleccionadas para su confirmación mediante pruebas bioquímicas de identificación (Kazemian et al., 2016).

### 3.2.5.1 Agar Triple Azúcar Hierro (TSI)

La inoculación del medio TSI se efectuó mediante la técnica combinada de punción profunda y estría superficial en pico de flauta, se incubó a 35°C por 24 horas. Este medio diferencial permite evaluar la fermentación de tres carbohidratos (glucosa, lactosa y sacarosa), siendo los resultados característicos de *E. coli* los indicados en la Tabla 5 (Barros et al., 2023).

**Tabla 5**

*Parámetros para identificación E. coli mediante pruebas bioquímicas.*

<i>Prueba</i>	<i>Parámetros</i>	<i>Reacción en E. coli</i>
<b>TSI</b>	<i>Superficie/Profundidad</i>	<i>A/A</i>
	<i>GAS</i>	+
	<i>SH<sub>2</sub></i>	-
<b>SIM</b>	<i>Movilidad</i>	+
	<i>Indol</i>	+
	<i>SH<sub>2</sub></i>	-
<b>Simmons citrato</b>	<i>Crecimiento</i>	+
	<i>Color del medio</i>	<i>Verde</i>

*Nota:* Elaborado con la información de “Estrategias para la identificación de *E. coli*”(Chinen & Malbrán, 2021).

### 3.2.5.2 Medio Sulfídrico indol movilidad SIM

Se realizó una inoculación con punción recta en el centro del tubo (dos tercios de profundidad en el medio SIM) y se incubó a 35° C, por 24 horas (MacWilliams, 2009). Transcurrido el periodo de incubación, se añadieron tres gotas del reactivo de Kovács al cultivo, para evaluar la producción de indol (formación de un anillo rojizo ) y los demás parámetros bioquímicos detallados en la Tabla 4 (Bernaitis et al., 2024).

### **3.2.5.3 Agar Simmons Citrato**

Se inoculó el medio mediante estría en zigzag sobre la superficie del pico de flauta, incubándose a 35°C durante 24 horas, para evaluar la capacidad bacteriana de utilizar el citrato como única fuente de carbono, los resultados esperados se detallan en la Tabla 5 (Chinen & Malbrán, 2021).

### **3.2.6 Conservación de aislados**

Los aislados confirmados como *E. coli* se conservaron tomando con un asa estéril colonias aisladas de cada caja de los cultivos axénicos y se transfirió a 10 ml de Caldo de Soja Triptítico (TSB). Se incubaron a 35°C durante 24 horas (Acuff et al., 2021). Se formuló viales de 1 ml con TSB y glicerol 30%, en una proporción (1:1). Se almacenó en cajas de crioconservación a -20°C (Pérez & Sosa, 2010).

## **3.3 Ejecución del segundo objetivo**

### **3.3.1 Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana**

#### **3.3.1.1 Preparación de medio y estandarización de Inóculos**

Se preparó el medio Mueller Hinton (TM®) siguiendo las recomendaciones del fabricante y se vertió en placas de Petri estériles (Bernaitis et al., 2024).

Las cepas confirmadas como *E. coli* mediante pruebas bioquímicas se cultivaron en agar MacConkey suplementado con cefotaxima (4 µg/ml), a 35°C por 24 horas para obtener colonias frescas. Posteriormente, se transfirieron de 3 a 5 colonias a tubos con caldo TSB utilizando un asa bacteriológica estéril. La suspensión bacteriana se ajustó a una turbidez equivalente al estándar 0.5 McFarland mediante densitometría (bioSan®) (Mir et al., 2016).

#### **3.3.1.3 Elaboración del Antibiograma**

Las placas de Mueller Hinton se inocularon con hisopos estériles empapados en la suspensión bacteriana de los tubos con TSB. La siembra se realizó en tres direcciones

con rotaciones de 60° para asegurar una distribución homogénea del inóculo, siguiendo la metodología de Kirby-Bauer (Choudhari et al., 2020).

Con la ayuda de pinzas estériles se colocaron los discos de antibióticos (16 antibióticos descritos en la Tabla 6), manteniendo una separación de 2.5 cm entre discos y un máximo de 6 discos por placa. Las placas se incubaron invertidas a 35°C durante 24 horas. Los halos de inhibición se midieron en milímetros con un calibrador digital (0-150mm) (Haque et al., 2023).

**Tabla 6**

*Criterio de interpretación de la zona de inhibición según CLSI 2024*

<i>Antibiótico</i>	<i>Contenido</i>	<i>Punto de corte</i>			
		<i>S</i>	<i>SDD</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
<i>Ciprofloxacina (CIP)</i>	<i>30 µg</i>	$\geq 26$		<i>22-25</i>	$\leq 21$
<i>Levofloxacina (LEV)</i>	<i>30 µg</i>	$\geq 21$		<i>17-20</i>	$\leq 16$
<i>Cefepima (FEP)</i>	<i>30 µg</i>	$\geq 25$	<i>19-24</i>		$\leq 18$
<i>Cefotaxima (CTX)</i>	<i>5 µg</i>	$\geq 26$		<i>23-25</i>	$\leq 22$
<i>Ceftazidima (CAZ)</i>	<i>15 µg</i>	$\geq 21$		<i>18-20</i>	$\leq 17$
<i>Amoxicilina/ácido clavulánico (AMC)</i>	<i>5 µg</i>	$\geq 18$		<i>14-17</i>	$\leq 13$
<i>Piperacilina/tazobactam (TZP)</i>	<i>25 µg</i>	$\geq 25$	<i>21-24</i>		$\leq 20$
<i>Cefoxitina (FOX)</i>	<i>30 µg</i>	$\geq 18$		<i>15-17</i>	$\leq 14$
<i>Ertapenem (ETP)</i>	<i>15 µg</i>	$\geq 22$		<i>19-21</i>	$\geq 18$
<i>Tetraciclina (TE)</i>	<i>10 µg</i>	$\geq 15$		<i>12--14</i>	$\leq 11$
<i>Amikacina (AK)</i>	<i>30 µg</i>	$\geq 20$		<i>17-19</i>	$\leq 16$
<i>Gentamicina (CN)</i>	<i>30 µg</i>	$\geq 18$		<i>15-17</i>	$\leq 14$
<i>Tigeciclina (TGC)</i>	<i>10 µg</i>	$\geq 19$		<i>15-18</i>	$\leq 14$
<i>Fosfomicina/trometamol (FOT)</i>	<i>300 µg</i>	$\geq 16$		<i>13-15</i>	$\leq 12$
<i>Nitrofurantoina (F)</i>	<i>200 µg</i>	$\geq 17$		<i>15-16</i>	$\leq 14$
<i>sulfametoxazol/trimetoprima (SXT)</i>	<i>30 µg</i>	$\geq 16$		<i>11-15</i>	$\leq 10$

*Nota:* La tabla muestra los intervalos para la clasificación de la zona de inhibición según el CLSI, clasificando en sensible (**S**), intermedio (**I**), susceptible dependiente de la dosis (**SDD**) y resistente (**R**)

### ***3.3.1.4 Establecimiento del perfil de susceptibilidad según la guía del Clinical Laboratory Standards Institute CLSI***

Para la interpretación de los patrones de susceptibilidad se realizó una comparación de los diámetros de los halos de inhibición con los puntos de corte establecidos por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2024), clasificando cada aislado como sensible (S), intermedio (I), susceptible dependiente de la dosis (SDD) o resistente (R) para cada antimicrobiano detallado en la Tabla 6 (Adegoke et al., 2020)

### **3.3.2 Evaluación de la producción de BLEE mediante pruebas de sinergia de doble disco (DDST)**

Para la prueba DDST, se colocó un disco de Amoxicilina/ácido clavulánico (AMC, 5 µg), un inhibidor de betalactamasas, cercano a dos discos de betalactámicos indicadores, cefotaxima (CTX, 5 µg) y ceftazidima (CAZ, 15 µg), a una distancia de 15 mm (Ezeanya et al., 2017). Esta disposición permite observar el efecto sinérgico producido mediante una ampliación del halo de inhibición de CTX y CAZ, en la zona adyacente al disco AMC, un indicador de producción de BLEE (Adegoke et al., 2020; Ezeanya et al., 2017).

## **3.4 Análisis Estadístico**

Los datos se registraron utilizando tablas con la siguiente información: punto de muestreo, fecha de muestreo, conteo de colonias, identificación del microorganismo, el perfil de susceptibilidad antimicrobiana, la detección fenotípica de BLEE (positivo o negativo). Los datos obtenidos de la investigación fueron analizados mediante el programa InfoStat/L considerando las variables de estudio: el punto de muestreo y UFC para el primer objetivo. Para ello se realizó una prueba de Kruskal Wallis, con un nivel de confianza de 95% ( $\alpha= 0.05$ ) (Salvia et al., 2022).

Para analizar los perfiles de susceptibilidad, se registraron los datos codificando a los aislados, y la zona de inhibición para cada antibiótico. Se realizó mapas de calor, considerando si es sensible, susceptible dependiente de la dosis, intermedio o resistente para cada uno de los antibióticos, para analizar los perfiles de multirresistencia. Para analizar la resistencia para los 16 antibiótico por punto de muestreo se realizó tablas de contingencia.

## CAPÍTULO IV

### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1 Aislamiento y recuento de bacterias

Al realizar la prueba de Kruskal Wallis, se identificó diferencias significativas entre los meses de estudio para el recuento de UFC (H: 20,83,  $p=0,0040$ ,  $gl=17$ ). También, se determinó que existen diferencias significativas entre los puntos de muestreo para el recuento de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) para septiembre y octubre, respectivamente (H: 10,17;  $p=0,0169$ ;  $gl=3$ ) y (H: 8,83;  $p=0,030$ ;  $gl=3$ ) (Anexo 1 y Anexo 2).

Al contrastar los resultados del recuento de aislados de *E. coli* totales y resistentes a cefotaxima (CTX), en los cuatro puntos de la planta de tratamiento, se pudo identificar que, para septiembre, se presentó el mayor recuento de *E. coli* totales, en la Entrada con 240 000 UFC/ml, mientras que, en la Salida, se reportó los recuentos más bajos, con 138 000 UFC/ml. Se estimó una reducción de *E. coli* totales del 42,5%, como se muestra en la Figura 4. Mientras que al analizar los aislados resistentes a CTX, se determinó que, nuevamente, el tanque de Entrada tenía mayor presencia de aislados resistentes, con 88000 UFC/ml, mientras que la piscina de Ripio presentó los recuentos más bajos, con 34 000 UFC/ml. Se estimó una eliminación de *E. coli* resistentes al comparar la Entrada y la Salida de 1. 4%. Sin embargo, se observó una reducción del 61,36% de la Entrada a la piscina de Ripio, mostrando este punto un aumento crítico (155,88%), con respecto a la Salida, como se observa en la Figura 4.

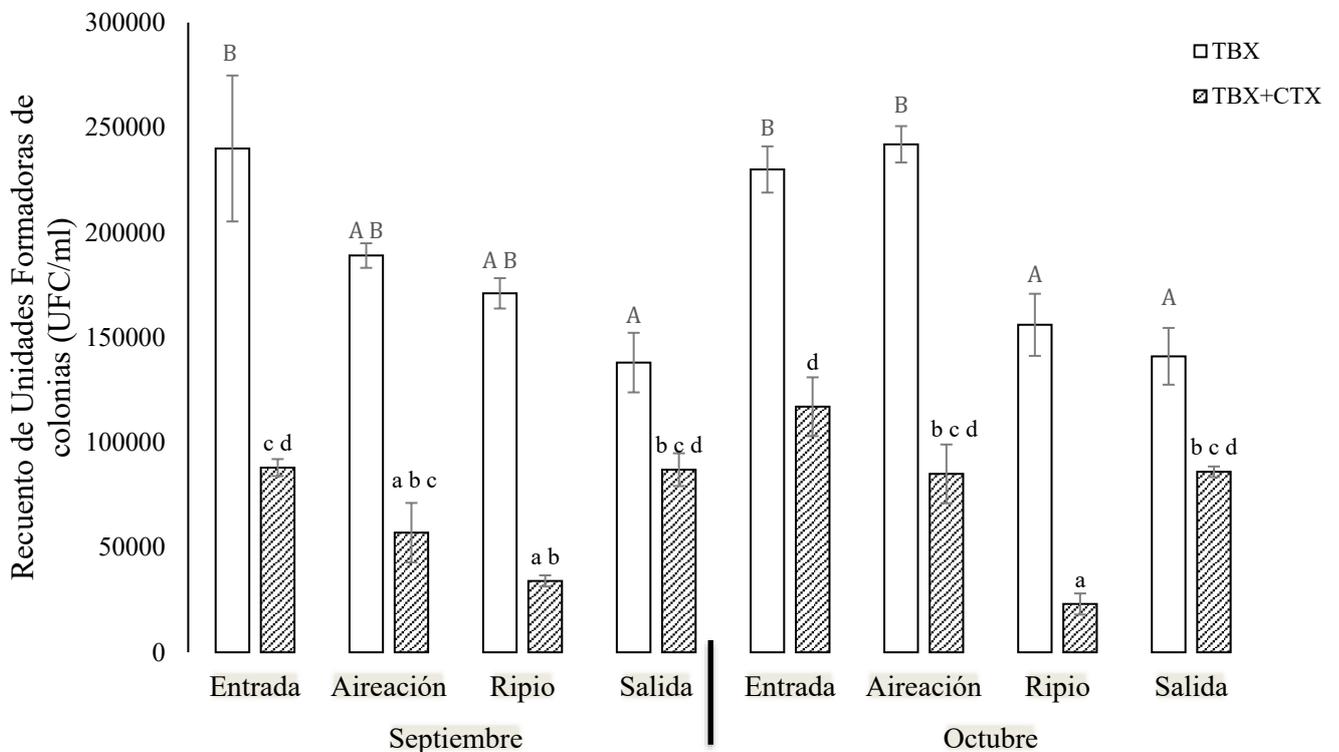
En octubre, se reportó la piscina de Oxigenación como el punto con mayor presencia de *E. coli* totales, con recuentos de 242 000 UFC/ml, y los recuentos más bajos se reportaron en la Salida con 141 000 UFC/ ml. Se estimó una disminución de *E. coli*

totales del 39,6%, como se muestra en la Figura 4. Mientras que, al analizar los recuentos de aislados resistentes a CTX, se identificó como el punto con recuento más alto la Entrada con 117 000 UFC/ml, y el punto con los recuentos más bajos la piscina de Ripio con 23 000 UFC/ml. Se estimó una disminución del 26, 50% con respecto de la Entrada a la Salida. Aunque, se evidenció, una reducción del 80,34% de la Entrada a la piscina de Ripio, nuevamente, este punto mostró un aumento crítico (273,91%), con respecto a la Salida, como se observa en la Figura 4.

Además, al aplicar la Ec.1 el recuento de aislados totales frente a aislados resistentes, indica que el 37,93% de las cepas de *E. coli*, reportadas en los 4 puntos de muestreo, en los dos meses, son resistentes a antibióticos betalactámicos.

**Figura 4.-**

*Recuento de Unidades formadoras de colonias (UFC/ml) en los 4 puntos de muestreo en los meses septiembre y octubre*



*Nota:* Las barras de error representan el valor de la desviación estándar (SD)

Las plantas de tratamiento de aguas residuales pueden actuar como reservorios de genes de resistencia a antibióticos y bacterias resistentes, facilitando su diseminación en el ambiente receptor (Mutuku et al., 2022). Las concentraciones bacterianas observadas en este estudio resultan particularmente elevadas al compararlas con estudios previos, realizados en China y España, en aguas residuales municipales y urbanas, donde se documentaron recuentos entre  $10^3$  y  $10^4$  UFC/ml (Rodríguez-Mozaz et al., 2015; Yao et al., 2021). Por otro lado, los resultados de la PTAR-UTN, se asemejan a los valores reportados en estudios de PTAR hospitalarias, realizados en África y Marruecos, donde se reportaron recuentos de  $1,02 \times 10^5 - 5,1 \times 10^6$  UFC/ml respectivamente, donde existe mayor resistencia cefalosporinas de tercera generación (Adomako et al., 2021; Sayerh et al., 2025). Además, estudios de análisis metagenómicos globales, indican que las aguas residuales urbanas, en países en desarrollo, pueden presentar variaciones estacionales aumentando de 2 a 5 veces la presencia genes de resistencia a betalactámicos (Hendriksen et al., 2019).

Según la normativa ecuatoriana, los criterios admisibles para el recuento de coliformes totales son un máximo de 1000 NMP/100ml o UFC/100 ml, para hacer uso de aguas tratadas para el riego de campos y recreación, (Acuerdo Ministerial 097-A) (Ministerio del Ambiente, 2015). En esta investigación se reportó un máximo recuento de 242 000 UFC/ml de *E. coli* totales y 117 000 UFC/ml resistentes a betalactámicos, superando el rango establecido como límite máximo permisible para el uso en riego.

Además, la eficiencia de remoción bacteriana observada en el presente estudio (42,5% en septiembre y 39,6% en octubre para *E. coli* totales) se sitúan en el límite inferior del rango reportado para sistemas convencionales de lodos activados. Las PTAR convencionales presentan rangos de remoción de 35% a 70% (Kalli et al., 2025; Lan et

al., 2025). Lo que indica la importancia de implementar un tratamiento terciario, que aumente la eficiencia de remoción entre 55 y 85% (Oliveira et al., 2023).

Además, los resultados muestran una eficiencia de remoción variable y limitada de *E. coli* resistente a CTX (1.4% en septiembre y 26.50% en octubre). Estudios realizados en plantas de tratamiento municipales chinas, documentaron que las bacterias resistentes mantienen concentraciones de  $10^4$ - $10^5$  UFC/L en efluentes tratados, lo que indica que, aunque las concentraciones totales se reducen significativamente, la proporción de bacterias resistentes puede mantenerse o incluso aumentar durante el tratamiento (Wen et al., 2024). Por otro lado, investigaciones en plantas de tratamiento de aguas residuales en Sudáfrica, indican que aplicar una etapa de cloración, aumentan la capacidad de remoción entre 96.5% y 100% para cepas *E. coli* resistentes a cefotaxima (Adegoke et al., 2020).

El rango de cepas resistentes a cefotaxima del 37,93%, observada en este estudio, puede deberse a la presencia continua de trazas de antimicrobianos, capaces de ejercer presión selectiva durante el tratamiento, favoreciendo la supervivencia de cepas resistentes (Mutuku et al., 2022). Varios estudios han reportado rangos de 20-60% en países de ingresos medios y bajos, confirmando que los resultados de esta investigación están dentro de los valores esperados para el contexto regional (Kalli et al., 2025; Mutuku et al., 2022; Yao et al., 2021). En concordancia con Tolenada & Dayrit (2023), quienes, reportaron una disminución del 50% entre Entrada y Salida, se destaca la importancia de sistemas de tratamiento avanzado para reducir la diseminación ambiental de bacterias resistentes.

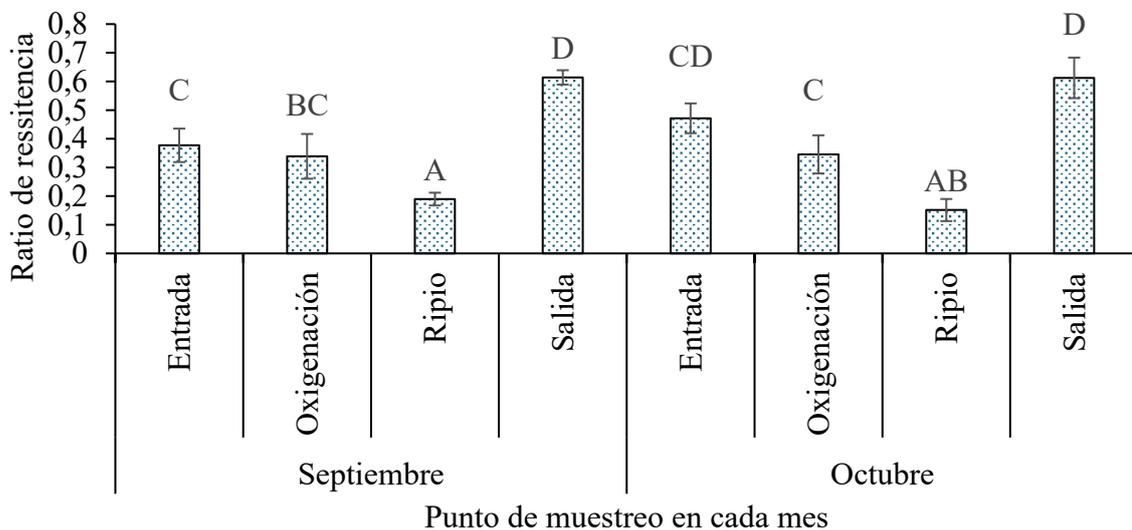
El análisis de varianza (ANOVA) para evaluar la prevalencia de aislados resistentes a CTX mediante ratios (*E. coli* resistentes a CTX/ *E. coli* totales) reveló que no existen diferencias significativas entre los meses de septiembre y octubre ( $F = 1.56$ ;

$p=0.23$ ;  $gl=3$ ), lo que sugiere estabilidad temporal en los niveles generales de resistencia. Sin embargo, se identificaron diferencias significativas entre los puntos de muestreo tanto en septiembre ( $F=36.89$ ;  $p<0.0001$ ;  $gl=3$ ) como en octubre ( $F=34.87$   $p<0.0001$ ;  $gl=3$ ), evidenciando variabilidad de los niveles de resistencia durante el proceso de tratamiento.

La prueba de Tukey ( $DMS = 0.13$ ,  $\alpha = 0.05$ ), para septiembre, permitió observar que existen tres grupos (Oxigenación-Entrada, Ripio y Salida), significativamente diferentes entre sí, como lo muestra la Figura 5. Mientras que, en octubre, esta prueba ( $DMS = 0.15$ ,  $\alpha = 0.05$ ), permitió observar mayor diversidad en los niveles de resistencia, estableciéndose cuatro grupos (Ripio, Oxigenación, Salida y Entrada), con diferencias significativas, presentándose también en la Entrada y Salida una resistencia similar, como se muestra en la Figura 5.

**Figura 5.-**

*Ratio de resistencia bacteriana para septiembre y octubre.*



*Nota:* Se observa los niveles de presencia de bacterias resistentes en proporción a los recuentos totales de *E. coli*.

Las condiciones estacionales de septiembre y octubre, muestran ser constantes en cuanto a condiciones operacionales y climáticas, por lo cual no existen diferencias

significativas para la resistencia reportada en los meses de estudio (Gregova et al., 2021; Yin et al., 2022). Por otro lado, PTAR-UTN, muestra una alta presencia de cepas resistentes, principalmente en la piscina de Ripio y la Salida, que es consistente con estudios realizados en Eslovaquia, en PTAR que tratan desechos municipales y animales, donde la resistencia espacial es variable en los diferentes puntos de tratamiento. Según, estudios realizados en Portugal, indican que la persistencia de enterobacterias resistentes a cefotaxima en efluentes tratados, se debe principalmente a la presencia del gen *bla*-CTX-M, que les permite sobrevivir al proceso completo de tratamiento, inclusive a la desinfección UV (dosis de 40 mJ/cm<sup>2</sup>)(Silva et al., 2018).

## **4.2 Confirmación de la especie bacteriana *Escherichia coli***

### **4.2.1 Pruebas fenotípicas: Tinción de Gram**

Al realizar la microscopía, se observó que el 100% (n=72) de aislados, tenía forma de bacilos cortos, y presentaron una coloración rosada/rojiza. Al aplicar la técnica de primera línea Tinción de Gram, el perfil morfológico y colorimétrico respalda la identidad de los microorganismos como *E. coli* (Muhamad Hendri et al., 2024; Paray et al., 2023)

### **4.2.2 Pruebas bioquímicas**

Al realizar las pruebas bioquímicas, se reportó que el 100% de aislados presentaron perfiles positivos para *E. coli*, lo que sugiere que los aislados no presentan contaminación, ni variantes atípicas. Los resultados se alinean con lo expuesto por Hariri (2022) que indica que las pruebas bioquímicas convencionales, aunque son laboriosa, tiene un índice de confianza de hasta el 95%.

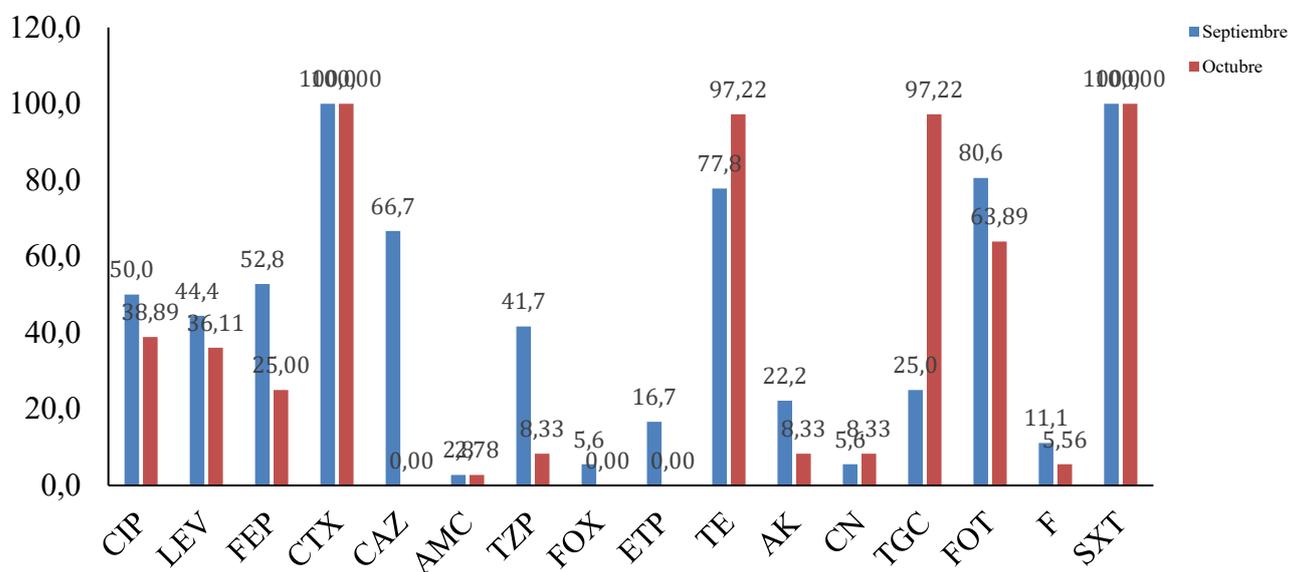
### 4.3 Perfil de susceptibilidad a antibióticos en aislados de *Escherichia coli*

Al evaluar la susceptibilidad de los aislados para los 16 antibióticos estudiados, en los cuatro puntos de muestreo, durante septiembre y octubre, se identificó que el 100% (n=72) de aislados presentó de resistencia a CTX y SXT. Estos resultados coinciden con los reportados en otros continentes, donde al aislar cepas de *E. coli* de diferentes puntos de una planta de tratamiento se reportó el 100% de los aislados resistentes a cefotaxima (Gündoğdu et al., 2013; Ibrahim et al., 2025). Además, como se muestra en la Figura 6, se presenta en septiembre y octubre respectivamente, una resistencia alta para TE (77,8%; 97,22 %), TGC (25%; 97,22%) y FOT (80,6%; 68,89), respectivamente.

Estos resultados se contrastan con los reportados en aguas residuales municipales, donde, se presentó resistencia para tetraciclina de 82% y de hasta el 67% en etapas postratamiento en PTAR urbanas (Aali et al., 2014; Tsvetanova & Boshnakov, 2025). La resistencia a tigeciclina es alarmante, se reporta en estudios donde se aisló *E. coli* resistente hasta en el 100% de cepas, confirmando la emergencia de esta resistencia en ambientes acuáticos Li et al., (S. Li et al., 2022; Ma et al., 2022). Por otro lado, la resistencia a fosfomicina observada supera significativamente los valores reportados en colecciones clínicas (3-15%), lo cual se debe a que en aguas residuales se facilita la transferencia horizontal del gen *fosA3* que tiene ubicación plasmídica, principal mecanismo de resistencia presente en hasta el 90% de las cepas resistentes a este antibiótico (Díez-Aguilar & Cantón, 2019).

**Figura 6.-**

*Porcentaje de resistencia para cada antibiótico durante septiembre y octubre*



*Nota:* Se muestra los 16 antibióticos evaluados Ciprofloxacina (CIP), Levofloxacina (LEV), Cefepime (FEP), Cefotaxima (CTX), Ceftazidima (CAZ), Amoxicilina/ácido clavulánico (AMC), Piperacilina/tazobactam (TZP), Cefoxitina (FOX), Ertapenem (ETP), Tetraciclina (TE), Amikacina (AK), Gentamicina (CN), Tigeciclina (TGC), Fosfomicina/trometamol (FOT), Nitrofurantoina (F) y Sulfametoxazol/trimetoprima (SXT).

Como se muestra en la Tabla 7, durante el mes de septiembre, los antibióticos CAZ, FEP y FOT presentaron 100%, 83 % y 94 % de resistencia, respectivamente, en la Entrada y en la Oxigenación. Sin embargo, en la piscina de Ripio y Salida, esta resistencia disminuye a  $\leq 50$  %. Por otro lado, como se evidencia en la Tabla 8, durante el mes de octubre, los antibióticos TGC y TE, presentaron 97,22% aislados resistentes, en los cuatro puntos de muestreo. Estos resultados se asemejan a los reportados en muestras de aguas residuales de Nigeria, donde se evidenció un 94,5% de resistencia a tetraciclina y resistencia universal (100%) a ceftazidima (Adelowo et al., 2018). Las fluctuaciones en los perfiles de resistencia, se debe a variaciones en el tratamiento, como cambios en los

factores de temperatura, carga orgánica y eficiencia de los procesos biológicos (Godinho et al., 2024).

**Tabla 7.-**

*Perfil de susceptibilidad de los aislados de septiembre. n = 9 aislados por cada punto de muestreo.*

<i>Antibiótico</i>	<i>Entrada</i>		<i>Oxigenación</i>				<i>Ripio</i>				<i>Salida</i>					
	<i>S</i>	<i>SDD</i>	<i>I</i>	<i>R</i>	<i>S</i>	<i>SDD</i>	<i>I</i>	<i>R</i>	<i>S</i>	<i>SDD</i>	<i>I</i>	<i>R</i>	<i>S</i>	<i>SDD</i>	<i>I</i>	<i>R</i>
<i>CIP</i>	1	0	4	4	0	0	3	6	2	0	2	5	3	0	3	3
<i>LEV</i>	4	0	2	3	2	0	3	4	4	0	1	4	4	0	0	5
<i>FEP</i>	0	2	0	7	0	1	0	8	1	6	0	2	0	7	0	2
<i>CTX</i>	0	0	0	9	0	0	0	9	0	0	0	9	0	0	0	9
<i>CAZ</i>	0	0	0	9	0	0	0	9	4	0	0	5	8	0	0	1
<i>AMC</i>	7	0	2	0	8	0	1	0	7	0	2	0	5	0	3	1
<i>TZP</i>	2	0	0	7	0	4	0	5	5	2	0	2	4	4	0	1
<i>FOX</i>	8	0	0	1	7	0	1	1	9	0	0	0	8	0	1	0
<i>ETP</i>	1	0	5	3	6	0	1	2	5	0	3	1	9	0	0	0
<i>TE</i>	0	0	0	9	4	0	1	4	2	0	0	7	0	0	1	8
<i>AK</i>	0	0	5	4	0	0	5	4	5	0	4	0	6	0	3	0
<i>CN</i>	1	0	7	1	2	0	7	0	6	0	2	1	8	0	1	0
<i>TGC</i>	0	0	9	0	0	0	8	1	5	0	4	0	1	0	0	8
<i>FOT</i>	0	0	0	9	1	0	0	8	3	0	0	6	3	0	0	6
<i>F</i>	3	0	5	1	2	0	4	3	9	0	0	0	7	0	2	0
<i>SXT</i>	0	0	0	9	0	0	0	9	0	0	0	9	0	0	0	9

*Nota:* Se muestra los 16 antibióticos evaluados Ciprofloxacina (CIP), Levofloxacina (LEV), Cefepime (FEP), Cefotaxima (CTX), Ceftazidima (CAZ), Amoxicilina/ácido clavulánico (AMC), Piperacilina/tazobactam (TZP), Cefoxitina (FOX), Ertapenem (ETP), Tetraciclina (TE), Amikacina (AK), Gentamicina (CN), Tigeciclina (TGC), Fosfomicina/trometamol (FOT), Nitrofurantoina (F) y Sulfametoxazol/trimetoprima (SXT).). La zona de inhibición según el CLSI clasifica en sensible (S), intermedio (I), susceptible dependiente de la dosis (SDD) y resistente (R)

**Tabla 8.-**

*Perfil de susceptibilidad de los aislados de octubre.*

<i>Antibiótico</i>	<b>Entrada</b>				<b>Oxigenación</b>				<b>Ripio</b>				<b>Salida</b>			
	<b>S</b>	<b>SDD</b>	<b>I</b>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>SDD</b>	<b>I</b>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>SDD</b>	<b>I</b>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>SDD</b>	<b>I</b>	<b>R</b>
<i>CIP</i>	4	0	2	3	5	0	0	4	4	0	2	3	4	0	1	4
<i>LEV</i>	6	0	1	2	5	0	0	4	6	0	0	3	5	0	0	4
<i>FEP</i>	2	3	0	4	4	4	0	1	5	2	0	2	3	4	0	2
<i>CTX</i>	0	0	0	9	0	0	0	9	0	0	0	9	0	0	0	9
<i>CAZ</i>	7	0	2	0	9	0	0	0	8	0	1	0	9	0	0	0
<i>AMC</i>	5	0	3	1	7	0	2	0	6	0	3	0	8	0	1	0
<i>TZP</i>	5	3	0	1	9	0	0	0	5	3	0	1	5	3	0	1
<i>FOX</i>	9	0	0	0	9	0	0	0	9	0	0	0	9	0	0	0
<i>ETP</i>	9	0	0	0	9	0	0	0	9	0	0	0	9	0	0	0
<i>TE</i>	0	0	0	9	1	0	0	8	0	0	0	9	0	0	0	9
<i>AK</i>	0	0	8	1	8	0	0	1	7	0	2	0	6	0	2	1
<i>CN</i>	8	0	0	1	9	0	0	0	7	0	2	0	7	0	0	2
<i>TGC</i>	0	0	0	9	0	0	0	9	0	0	0	9	0	0	1	8
<i>FOT</i>	2	0	0	7	4	0	0	5	3	0	0	6	4	0	0	5
<i>F</i>	7	0	2	0	9	0	0	0	7	0	1	1	8	0	0	1
<i>SXT</i>	0	0	0	9	0	0	0	9	0	0	0	9	0	0	0	9

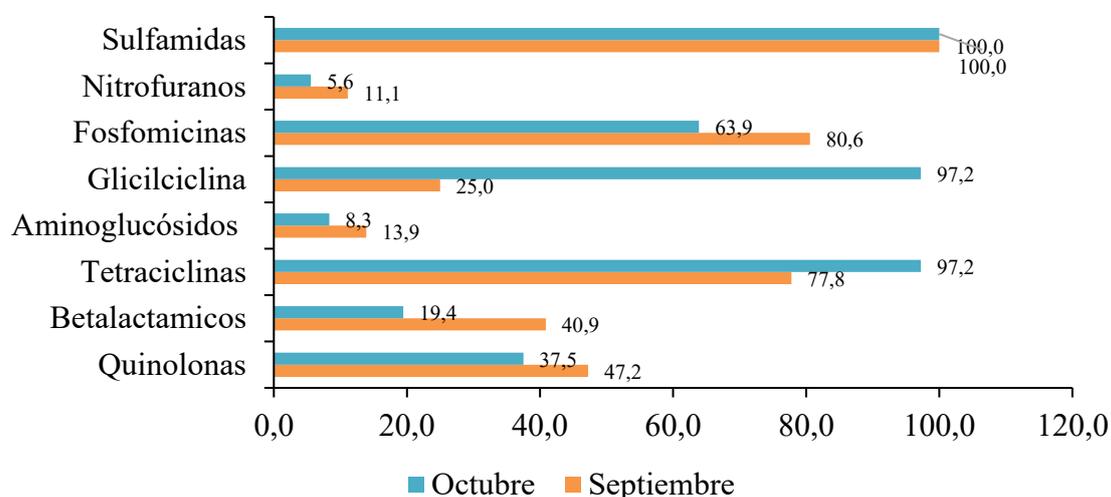
*Nota:* Se muestra los 16 antibióticos evaluados Ciprofloxacina (CIP), Levofloxacina (LEV), Cefepime (FEP), Cefotaxima (CTX), Ceftazidima (CAZ), Amoxicilina/ácido clavulánico (AMC), Piperacilina/tazobactam (TZP), Cefoxitina (FOX), Ertapenem (ETP), Tetraciclina (TE), Amikacina (AK), Gentamicina (CN), Tigeciclina (TGC), Fosfomicina/trometamol (FOT), Nitrofurantoina (F) y Sulfametoxazol/trimetoprima (SXT). La zona de inhibición según el CLSI

clasifica en sensible (S), intermedio (I), susceptible dependiente de la dosis (SDD) y resistente (R).

Al realizar el análisis por familias de antibióticos, como se muestra en la Figura 7, se identificó los siguientes perfiles de resistencia. Para septiembre y octubre respectivamente, sulfamidas 100%, tetraciclinas (77,8% y 97,2), fosfomicinas (80,6 y 63,9%), y se evidencia una alta resistencia en las glicinas para el mes de octubre con 97,2%. Por otro lado, la menor resistencia se evidencia en los Nitrofuranos y aminoglucósidos. Estos patrones de resistencia son consistentes con la literatura internacional sobre PTAR, donde se indican que, las sulfamidas presentan las mayores tasas de resistencia en sistemas de tratamiento de aguas residuales debido a su uso extensivo, tanto en medicina humana como veterinaria, lo cual explica la resistencia universal observada (Wang & Chen, 2022). La alta resistencia a tetraciclinas (77,8-97,2%) concuerda la tasa de resistencia de 73,9% a tetraciclinas en *E. coli* ambiental, sugiriendo que estos determinantes de resistencia están ampliamente distribuidos en ambientes acuáticos contaminados (Jamrin et al., 2022).

**Figura 7.-**

*Perfil de susceptibilidad de los aislados por familias de antibióticos para septiembre y octubre*



#### 4.4 Multirresistencia

El mapa de calor (Anexo 3), permite identificar el perfil de susceptibilidad de los aislados para los meses de septiembre y octubre, como se muestra en la Tabla 9, donde se evidenció una resistencia universal a los antibióticos betalactámicos y sulfamidas, también se observó un aumento crítico en la resistencia durante el proceso de tratamiento para quinolonas y tetraciclinas.

**Tabla. -9**

*Porcentaje de resistencia en los cuatro puntos de muestreo para septiembre y octubre.*

<b>Familias</b>	<b>Entrada</b>	<b>Oxigenación</b>	<b>Ripio</b>	<b>Salida</b>
<b>Quinolonas</b>	55,6	66,7	77,8	55,6
<b>Betalactámicos</b>	100,0	100,0	100,0	100,0
<b>Tetraciclinas</b>	100,0	44,4	77,8	88,9
<b>Aminoglucósidos</b>	55,6	44,4	11,1	0,0
<b>Glicilciclinas</b>	0,0	11,1	0,0	88,9
<b>Fosfomicinas</b>	88,9	88,9	66,7	66,7
<b>Nitrofuranos</b>	11,1	33,3	0,0	0,0
<b>Sulfamidas</b>	100,0	100,0	100,0	100,0

Además, el 100% de aislados presentan multirresistencia a las diferentes familias de antibióticos estudiadas. Se identificaron 33 patrones diferentes entre los 72 aislados, siendo los patrones de resistencia más prevalentes C, T, GC, F, S (15.28%), C, T, GC, S (12.50%) y Q, C, T, GC, F, S (9.72%). Los patrones analizados mostraron resistencia de 3 a 8 familias de antimicrobianos, principalmente a las sulfamidas, cefalosporinas, tetraciclinas, glicilciclinas y fosfomicinas. Mientras que la menor resistencia se presentó frente a las cefamicinas y carbapenémicos, como se muestra en la Tabla 10. Esta diversidad de patrones de multirresistencia es similar con la investigación realizada en

aguas residuales hospitalarias en Colombia, que reportan multirresistencia universal (100%) en efluentes hospitalarios, a su vez se encuentra una multirresistencia superior al 76% reportado por Salvia et al. (2022), en aislamientos clínicos hospitalarios (Tellez-Carrasquilla et al., 2023). Wang et al., (2020) dicen que las PTAR, al tener una mezcla de aguas de diferentes orígenes, facilitan el desarrollo de multirresistencia bacteriana. La presencia de contaminantes fecales es una de las principales causas de la abundancia de genes de resistencia (Karkman et al., 2019). Esta mezcla de contaminantes crea un ambiente propicio para la co-selección y transferencia horizontal de múltiples mecanismos de resistencia (Salvia et al., 2022). En ambientes acuáticos, Uluseker et al., (2021), describen que la presencia de múltiples elementos genéticos móviles facilita la emergencia de fenotipos multirresistentes complejos.

**Tabla 10.-**

*Patrones de resistencia a diferentes familias de antibióticos de los aislados de septiembre y octubre*

Patrones de resistencia	Frecuencia	
	Aislados	%
C, T, GC, F, S	11	15,28
C, T, GC, S	9	12,50
Q, C, T, GC, F, S	7	9,72
Q, C, T, F, S	3	4,17
Q, C, T, S	3	4,17
Q, C, T, GC, S	3	4,17
C, T, F, S	3	4,17
C, BLC, T, GC, F, S	3	4,17
C, BLC, T, AG, F, S	2	2,78
Q, C, F, S	2	2,78
C, T, S	2	2,78
C, T, AG, F, NF, S	2	2,78
Q, C, BLC, T, F, S	1	1,39

<b>C, BLC, CB, T, AG, F, S</b>	1	1,39
<b>Q, C, BLC, CB, T, S</b>	1	1,39
<b>Q, C, BLC, T, AG, F, S</b>	1	1,39
<b>Q, C, BLC, CM, CB, T, F, S</b>	1	1,39
<b>C, BLC, S</b>	1	1,39
<b>C, BLC, T, AG, F, NF, S</b>	1	1,39
<b>C, AG, F, S</b>	1	1,39
<b>Q, C, BLC, CB, F, NF, S</b>	1	1,39
<b>Q, C, BLC, CB, T, AG, GC, F, S</b>	1	1,39
<b>Q, C, BLC, CM, T, AG, F, NF, S</b>	1	1,39
<b>Q, C, AG, F, S</b>	1	1,39
<b>C, CB, T, F, S</b>	1	1,39
<b>C, BLC, T, F, S</b>	1	1,39
<b>Q, C, GC, F, S</b>	1	1,39
<b>Q, C, BLC, T, GC, F, S</b>	1	1,39
<b>Q, C, BLC, T, GC, S</b>	1	1,39
<b>Q, C, T, AG, GC, F, S</b>	1	1,39
<b>C, GC, S</b>	1	1,39
<b>C, T, GC, F, NF, S</b>	1	1,39
<b>Q, C, BLC, T, AG, GC, S</b>	1	1,39
<b>Q, C, BLC, T, AG, GC, S</b>	1	1,39

*Nota:* Se muestra los patrones de resistencia para las familias quinolonas (Q), cefalosporinas (C), betalactámicos compuestos (BLC), cefamicinas (CM), Carbapenémicos (CB), Tetraciclinas (T), Aminoglucósidos (AG), gliciliclinas (GC), Fosfomicinas (F), Nitrofuranos (NF), y sulfamidas (S)

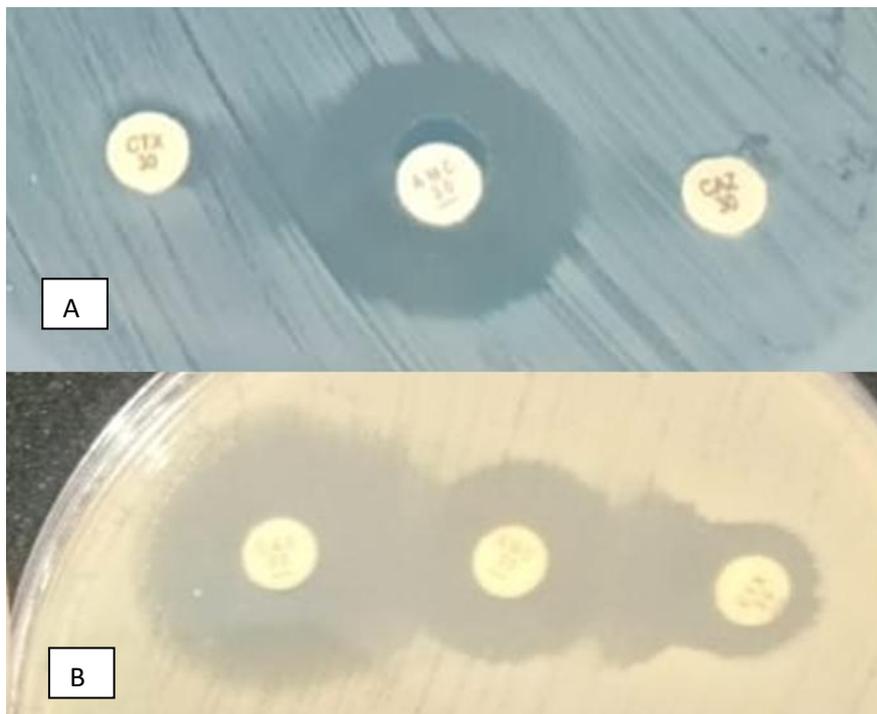
#### **4.5 Prueba de sinergia de doble disco para identificación fenotípica de Betalactamasas de espectro extendido (BLEE)**

El 68% de los aislados (72), entre septiembre y octubre, tuvieron una reacción fenotípica positiva para la producción de BLEE, evidenciándose un efecto sinérgico entre los discos con antibióticos CTX, AMC y CAZ, como se evidencia en la Figura 8 y Figura

9. La amenaza de bacterias productoras de enzimas BLEE, es un riesgo para la salud pública (Adelowo et al., 2018; Sivakumar et al., 2021). Pintor-Cora et al., (2021), indican que estas bacterias se diseminan con rapidez, colonizando alimentos frescos, llegando así a la cadena alimentaria. Los resultados de esta investigación se contrastan con los reportados por Tellez-Carrasquilla et al., (2023), en un estudio realizado en Colombia, las cepas BLEE alcanzan hasta el 78.9%. Sin embargo, estos resultados superan los reportados por Adegoke et al., (2020), donde la producción de estas cepas es del 52,6%. Estas diferencias se pueden deber al mal manejo de protocolos de tratamiento de aguas residuales (Uluseker et al., 2021).

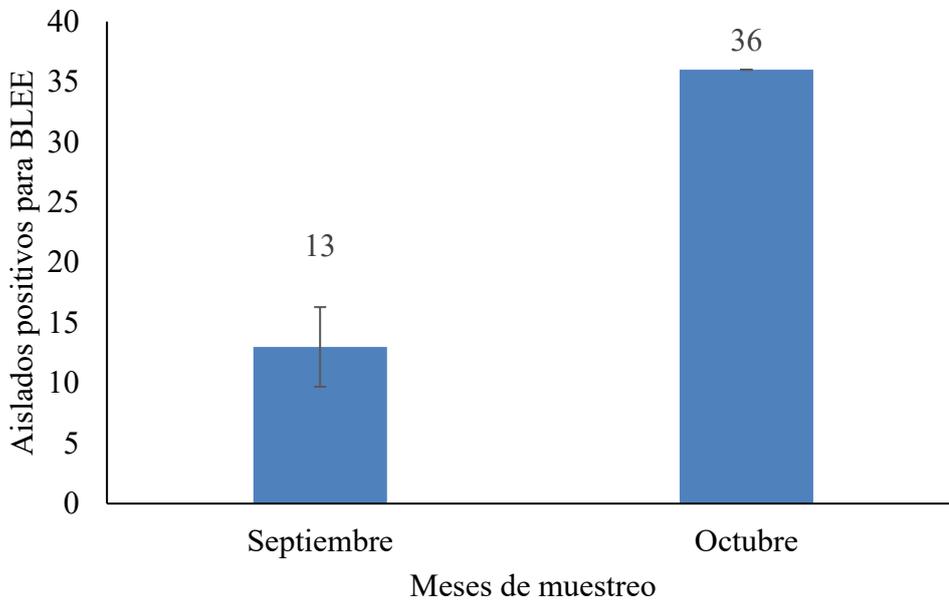
**Figura 8.-**

*Identificación fenotípica de BLEE: A) reacción negativa para producción de BLEE, B) reacción positiva para la producción de BLEE.*



**Figura 9.-**

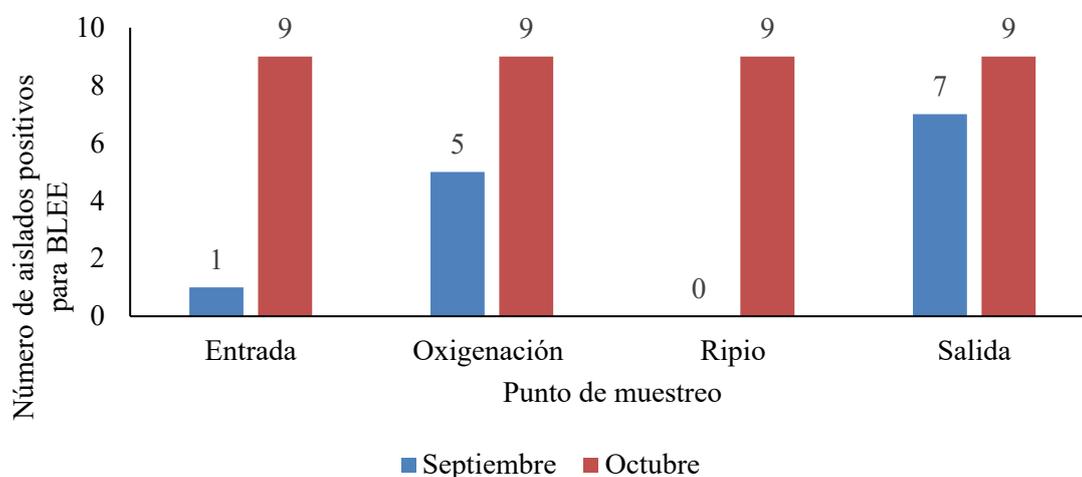
*Aislados de E. coli positivos para la producción de Betalactamasas de espectro extendido (BLEE)*



Como se observa en la Figura 9, septiembre presentó aproximadamente el 36% de aislados positivos para BLEE, mientras que en octubre se evidencia un 100% de *E. coli* BLEE. Por otro lado, al analizar la Figura 10, que muestra los aislados con reacción positiva, se identificó que, en septiembre, la piscina de Salida y Oxigenación (77,8% y 55,6%, respectivamente), presentaron producción de BLEE. Por otro lado, octubre, presentó 100% de producción de BLEE, en los cuatro puntos de estudio.

**Figura 10.-**

*Aislados positivos para BLEE, según el punto de muestreo, en cada mes estudiado.*



La evidente variación en cuanto a cepas *E. coli* BLEE en los meses de estudio, es consistente con los análisis realizados durante ocho meses en una PTAR sueca, mostrando fluctuaciones significativas de *E. coli* resistente a cefalosporinas de tercera generación, como parte de patrones de variabilidad espacial y temporal, propios de la ecología bacteriana (Conforti et al., 2024; Elmarghani et al., 2025). Además, la temperatura y precipitaciones interfieren de forma significativa en la prevalencia de genes BLEE (Liu et al., 2023). Los resultados de la piscina de Oxigenación, son consistentes con el estudio de aguas residuales, en una PTAR en Nigeria, donde se identificó que el 79,9% de aislados eran positivos para la producción de BLEE (Adelowo et al., 2018). Según un estudio colombiano, sugiere que la variabilidad observada refleja tanto factores ambientales como la circulación de diferentes clones bacterianos, lo que permite la expresión de genes BLEE (Aristizábal-Hoyos et al., 2019).

## CAPÍTULO V

### 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones

- Se aisló un total de 72 cepas de *Escherichia coli* resistentes a betalactámicos de en la PTAR de la Universidad Técnica del Norte durante septiembre-octubre 2024.
- El sistema de tratamiento implementado se considera de una eficiencia limitada en la remoción de bacterias resistentes (1.4% a 26.5% para septiembre y octubre, respectivamente), además presenta, reducciones del 42,5% (septiembre) y 39,6% (octubre) para *E. coli* totales.
- La piscina de Ripio demostró ser el punto más efectivo para la remoción inicial de *E. coli* resistente, con reducciones del 61.36% (septiembre) y 80.34% (octubre) respecto a la Entrada.
- El análisis de susceptibilidad antimicrobiana reveló que el 100% de los aislados presentaron multirresistencia, con 33 patrones diferentes de resistencia, siendo los más prevalentes C, T, GC, F, S (15.28%), C, T, GC, S (12.50%) y Q, C, T, GC, F, S (9.72%).
- Se determinó que el 68% de las cepas fueron productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), mediante la prueba de sinergia de doble disco (DDST).
- Los aislados mostraron mayor resistencia a sulfamidas, cefalosporinas y tetraciclinas, mientras que presentaron menor resistencia a carbapenémicos.

## 5.2 Recomendaciones

- Se recomienda realizar un análisis molecular de los aislados, para identificar la presencia de genes relacionados a la resistencia de cefalosporinas, como *bla*<sub>CTX-M</sub>, *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub>, para correlacionar el fenotipo con el genotipo.
- Secuenciar genomas completos de aislados representativos para identificar elementos genéticos de resistencia, así como plásmidos conjugativos, e identificar la dinámica de dispersión de los aislados entre diferentes ambientes. Además, esto permitirá identificar otros marcadores moleculares epidemiológicos y de virulencia.
- Ampliar el muestreo, tanto temporal como espacialmente, para comprender este fenómeno en otras PTAR, así como en diferentes épocas del año.

## REFERENCIAS

- Aali, R., Nikaeen, M., Khanahmad, H., & Hassanzadeh, A. (2014). Monitoring and comparison of antibiotic resistant bacteria and their resistance genes in municipal and hospital wastewaters. *International Journal of Preventive Medicine*, 5(7), 887–894.
- Abramo, J. M., Reynolds, A., Crisp, G. T., Weurlander, M., Söderberg, M., Scheja, M., Hult, H., Wernerson, A., Emacs, A., Distribution, U. E., Makes, W., Like, A., Text, O., Editors, O. T., Interface, T. A., Sets, D. C., Look, T. R., Veterans, E., Bindings, K., ... Rugg, G. (2012). Individuality in music performance. *Assessment & Evaluation in Higher Education*, 37(October), 435. <https://doi.org/10.1007/82>
- Abreu, N. (2020). Procedimiento de trabajo: Aislamiento y recuento de *E. coli* y coliformes en aguas residuales y depuradas mediante filtración por membrana (basado en ISO 9308-1:2014). *ADAPTaRES*, 5–7. [https://adaptares.com/wp-content/uploads/2021/10/ADAPTaRES\\_PNT-E.-coli.pdf](https://adaptares.com/wp-content/uploads/2021/10/ADAPTaRES_PNT-E.-coli.pdf)
- Acuff, J. C., Waterman, K., Ramakrishnan, J., & Ponder, M. A. (2021). Thermal resistance of single strains of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O121:H19 and O157:H7 based on culture preparation method and osmolyte-reduced water activity. *Journal of Food Protection*, 84(1), 122–127. <https://doi.org/10.4315/JFP-20-122>
- Adegoke, A. A., Madu, C. E., Aiyegoro, O. A., Stenström, T. A., & Okoh, A. I. (2020). Antibigram and beta-lactamase genes among cefotaxime resistant *E. coli* from wastewater treatment plant. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 9(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s13756-020-0702-4>
- Adelowo, O. O., Caucci, S., Banjo, O. A., Nnanna, O. C., Awotipe, E. O., Peters, F. B., Fagade, O. E., & Berendonk, T. U. (2018). Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)-producing bacteria isolated from hospital wastewaters, rivers and aquaculture sources in Nigeria. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(3), 2744–2755. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0686-7>
- Adhikari, S., & Halden, R. U. (2022). Opportunities and limits of wastewater-based epidemiology for tracking global health and attainment of UN sustainable development goals. *Environment International*, 163(December 2021), 107217. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107217>
- Adomako, L. A. B., Yirenya-Tawiah, D., Nukpezah, D., Abrahamya, A., Labi, A. K., Grigoryan, R., Ahmed, H., Owusu-Danquah, J., Annang, T. Y., Banu, R. A., Osei-Atweneboana, M. Y., Timire, C., Tweya, H., Ackon, S. E. D., Nartey, E., & Zachariah, R. (2021). Reduced bacterial counts from a sewage treatment plant but increased counts and antibiotic resistance in the recipient stream in Accra, Ghana—a cross-sectional study. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 6(2). <https://doi.org/10.3390/tropicalmed6020079>
- Aguilar Zapata, D. (2015). *E. coli* BLEE, la enterobacteria que ha atravesado barreras. *Revista de Investigación Médica Sur, México*, 22(2), 57–63.

- Aguillón, B. A., Duarte, V. I., Tornero, G. F., Cordero, L. E., Vargas, N. I., Padilla, V. F., & Franco, B. (2021). *Análisis filogenético y estructural de factores transcripcionales de Escherichia coli de función desconocida*. 1–13. [https://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/10234/2/03 BIOT 012 TRABAJO GRADO.pdf](https://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/10234/2/03%20BIOT%20012%20TRABAJO%20GRADO.pdf)
- Alarcon, A., & Omenaca, F. (2004). Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* Sepsis. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 23(10), 979–980. <https://doi.org/10.1097/01.inf.0000141751.73083.7a>
- Alós, J.-I. (2015). Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 33(10), 692–699. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2014.10.004>
- Amador, P. P., Fernandes, R. M., Prudêncio, M. C., Barreto, M. P., & Duarte, I. M. (2015). Antibiotic resistance in wastewater: Occurrence and fate of Enterobacteriaceae producers of Class A and Class C  $\beta$ -lactamases. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 50(1), 26–39. <https://doi.org/10.1080/10934529.2015.964602>
- Aristizábal-Hoyos, A. M., Rodríguez, E. A., Arias, L., & Jiménez, J. N. (2019). High clonal diversity of multidrug-resistant and extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in a wastewater treatment plant. *Journal of Environmental Management*, 245(May), 37–47. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.05.073>
- Armas, D. L. D., & Vizcaino, E. (2023). *IDENTIFICACIÓN DE CEPAS DE Escherichia coli RESISTENTES A CEFALOSPORINAS DE TERCERA GENERACIÓN EN EL CANAL DE RIEGO*.
- Armijos-Nieves, B., Herrera-Silva, L., Santos-Luna, J., Medina-Preciado, A., & Segura-Osorio, M. (2017). Redalyc.Resistencia de la bacteria *Escherichia coli* por la beta-lactamasas. *Revista Ciencia Unemi E-ISSN:*, 10.
- Aslan, A., Cole, Z., Bhattacharya, A., & Oyibo, O. (2018). Presence of antibiotic-resistant *Escherichia coli* in wastewater treatment plant effluents utilized as water reuse for irrigation. *Water (Switzerland)*, 10(6). <https://doi.org/10.3390/w10060805>
- Astocondor-Salazar, L. (2018). Betalactamasas: la evolución del problema. *Revista Peruana de Investigación En Salud*, 2(2), 42–49. <https://doi.org/10.35839/repis.2.2.224>
- Barancheshme, F., & Munir, M. (2018). Strategies to combat antibiotic resistance in the wastewater treatment plants. *Frontiers in Microbiology*, 8(JAN). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02603>
- Barros, M., Escobar, S., & Gómez, J. (2023). Identificación Molecular De La Bacteria *Escherichia coli*. *Revista Científica Arbitrada Multidisciplinaria PENTACIENCIAS.*, 5, 671–684.
- Bergeron, S., Boopathy, R., Nathaniel, R., Corbin, A., & LaFleur, G. (2015). Presence

- of antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes in raw source water and treated drinking water. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 102, 370–374. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.04.017>
- Bernaitis, L., Bharathi, P., Ezhilarasu, A., & Revathi, S. (2024). Isolation and molecular characterization of multi-drug resistant uropathogenic *Escherichia coli* from urine samples: Insights into urinary tract infection management. *Microbe (Netherlands)*, 5(August), 100185. <https://doi.org/10.1016/j.microb.2024.100185>
- Bougnom, B. P., Zongo, C., McNally, A., Ricci, V., Etoa, F. X., Thiele-Bruhn, S., & Piddock, L. J. V. (2019). Wastewater used for urban agriculture in West Africa as a reservoir for antibacterial resistance dissemination. *Environmental Research*, 168(June 2018), 14–24. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.09.022>
- Buriánková, I., Kuchta, P., Molíková, A., Sovová, K., Výravský, D., Rulík, M., Novák, D., Lochman, J., & Vítězová, M. (2021). Antibiotic resistance in wastewater and its impact on a receiving river: A case study of wwtp brno-modřice, czech republic. *Water (Switzerland)*, 13(16). <https://doi.org/10.3390/w13162309>
- Bush, K., & Bradford, P. A. (2016). Bush and Bradford - 2016 -  $\beta$ -Lactams and  $\beta$ -Lactamase Inhibitors An Overview.pdf. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, Table 1, 22.
- Cachopo, F. (2015). *Propagación de agentes resistentes a antibióticos inducida por el mal manejo de aguas residuales y liberación de antibióticos al ambiente*. 1–12.
- Calvo, J., & Martínez-Martínez, L. (2009). Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 27(1), 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2008.11.001>
- Chacón Jiménez, L. M., Hall Loría, K., Rivera Navarro, P. C., Reyes Lizano, L., Achí Araya, R., & Barrantes Jiménez, K. (2021). Circulación de genes de virulencia asociados a *Escherichia coli* diarrogénica en aguas residuales del Gran Área Metropolitana de Costa Rica. *Población y Salud En Mesoamérica*, 19. <https://doi.org/10.15517/psm.v19i2.48037>
- Chávez, I. (2017). Design and implementation of a treatment system Wastewater. *Dominio de Las Ciencias*, 3(1), 536–560.
- Chen, Y., Li, P., Huang, Y., Yu, K., Chen, H., Cui, K., Huang, Q., Zhang, J., Yew-Hoong Gin, K., & He, Y. (2019). Environmental media exert a bottleneck in driving the dynamics of antibiotic resistance genes in modern aquatic environment. *Water Research*, 162, 127–138. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.06.047>
- Chinen, I., & Malbrán, C. (2021). *Estrategias para la identificación de E. coli-OMSA*. [https://rr-americas.woah.org/app/uploads/2022/12/sp\\_identificacion\\_22-6-2022.pdf](https://rr-americas.woah.org/app/uploads/2022/12/sp_identificacion_22-6-2022.pdf)
- Choudhari, P., Ghodasara, D. J., Kabariya, D. V., Bhandari, B. B., & Momin, S. G. (2020). Isolation, antibiogram and molecular characterization of *Escherichia coli* in broiler flocks. *Indian Journal of Veterinary Sciences and Biotechnology*, 16(2/3/4), 35–39. <https://doi.org/10.21887/ijvsbt.16.>

- Choudhary, M., Peter, C. N., Shukla, S. K., Govender, P. P., Joshi, G. M., & Wang, R. (2020). *Environmental Issues: A Challenge for Wastewater Treatment*. 1–12. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-17724-9\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-17724-9_1)
- Clark Appling, K., Sobsey, M. D., Durso, L. M., & Fisher, M. B. (2023). Environmental monitoring of antimicrobial resistant bacteria in North Carolina water and wastewater using the WHO Tricycle protocol in combination with membrane filtration and compartment bag test methods for detecting and quantifying ESBL *E. coli*. *PLOS Water*, 2(9), e0000117. <https://doi.org/10.1371/journal.pwat.0000117>
- Conforti, S., Holschneider, A., Sylvestre, É., & Julian, T. R. (2024). Monitoring ESBL-*Escherichia coli* in Swiss wastewater between November 2021 and November 2022: insights into population carriage. *MSphere*, 9(5). <https://doi.org/10.1128/msphere.00760-23>
- Coque, T. M., Cantón, R., Pérez-Cobas, A. E., Fernández-de-Bobadilla, M. D., & Baquero, F. (2023). Antimicrobial Resistance in the Global Health Network: Known Unknowns and Challenges for Efficient Responses in the 21st Century. *Microorganisms*, 11(4). <https://doi.org/10.3390/microorganisms11041050>
- Davis, J. L. (2018). Pharmacologic Principles. In *Equine Internal Medicine: Fourth Edition* (Fourth Edi). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-44329-6.00002-4>
- Daza Pérez, R. . (1998). Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Inf OrmaciónTerapeutica Del Sistema Nacional de Salud*, 22(3), 57–67. <http://www.msc.es/fr/biblioPublic/publicaciones/docs/bacterias.pdf>
- Díez-Aguilar, M., & Cantón, R. (2019). Novos aspectos microbiológicos da fosfomicina. *Rev Esp Quimioter*, 32, 8–18. <https://mic.eucast>.
- Dulanto Chiang, A., & Dekker, J. P. (2024). Efflux pump-mediated resistance to new beta lactam antibiotics in multidrug-resistant gram-negative bacteria. *Communications Medicine*, 4(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s43856-024-00591-y>
- Elmarghani, E. D., Spörndly, R., Mourkas, E., & Järhult, J. D. (2025). Temporal and spatial variation of third-generation cephalosporin-resistant and ESBL-producing *Escherichia coli* in a Swedish urban water system. *Next Research*, 2(3), 100436. <https://doi.org/10.1016/j.nexres.2025.100436>
- Esparza, J. (2008). Descripción general de los principales grupos de fármacos antimicrobianos. Antibióticos. *Guía\_ABE*, 2, 21. <https://www.guia-abe.es/gestion/includes/html4pdf.php?id=descripcion-general-de-los-principales-grupos-de-farmacos-antimicrobianos-antibioticos->
- Ezeanya, C., Agbakoba, N., Ejike, C., & Okwelogu, S. (2017). Evaluation of a Chromogenic Medium for the Detection of ESBL with Comparison to Double Disk Synergy Test. *British Journal of Medicine and Medical Research*, 21(12), 1–11. <https://doi.org/10.9734/bjmmr/2017/33259>
- Fouz, N., Pangesti, K. N. A., Yasir, M., Al-Malki, A. L., Azhar, E. I., Hill-Cawthorne,

- G. A., & El Ghany, M. A. (2020). The contribution of wastewater to the transmission of antimicrobial resistance in the environment: Implications of mass gathering settings. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 5(1). <https://doi.org/10.3390/tropicalmed5010033>
- Galindo-Méndez, M. (2020). Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. *E. Coli Infections - Importance of Early Diagnosis and Efficient Treatment*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.93115>
- Godinho, O., Lage, O. M., & Quinteira, S. (2024). Antibiotic-Resistant Bacteria across a Wastewater Treatment Plant. *Applied Microbiology*, 4(1), 364–375. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol4010025>
- Gómez, J., García-Vásquez, E., & Hernández-Torres, A. (2015). Los betalactámicos en la práctica clínica Servicio. *International Journal of Immunopharmacology*, 4(4), 361. [https://doi.org/10.1016/0192-0561\(82\)90377-0](https://doi.org/10.1016/0192-0561(82)90377-0)
- Gregova, G., Kmet, V., & Szaboova, T. (2021). New insight on antibiotic resistance and virulence of *Escherichia coli* from municipal and animal wastewater. *Antibiotics*, 10(9), 1–11. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10091111>
- Grehs, B. W. N., Linton, M. A. O., Clasen, B., de Oliveira Silveira, A., & Carissimi, E. (2021). Antibiotic resistance in wastewater treatment plants: understanding the problem and future perspectives. *Archives of Microbiology*, 203(3), 1009–1020. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-02093-6>
- Gündoğdu, A., Jennison, A. V., Smith, H. V., Stratton, H., & Katouli, M. (2013). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Escherichia coli* in hospital wastewaters and sewage treatment plants in Queensland, Australia. *Canadian Journal of Microbiology*, 59(11), 737–745. <https://doi.org/10.1139/cjm-2013-0515>
- Haddad, M., M. Saadi, A., & Ahmed, B. (2024). Antibiotic classification, mechanisms, and indications: A review. *International Journal of Medical and All Body Health Research*, 5(3), 39–46. <https://doi.org/10.54660/ijmbhr.2024.5.3.39-46>
- Haque, M. H., Islam, M. Z., Miah, M. L., Das, S. K., & Sarker, S. (2023). Molecular characterization of multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from human urine infections with their antibiogram profile. *Journal of Advanced Biotechnology and Experimental Therapeutics*, 6(1), 172–183. <https://doi.org/10.5455/jabet.2023.d116>
- Hariri, S. (2022). Detection of *Escherichia coli* in Food Samples Using Culture and Polymerase Chain Reaction Methods. *Cureus*, 14(12), 10–15. <https://doi.org/10.7759/cureus.32808>
- Hendriksen, R. S., Munk, P., Njage, P., van Bunnik, B., McNally, L., Lukjancenko, O., Röder, T., Nieuwenhuijse, D., Pedersen, S. K., Kjeldgaard, J., Kaas, R. S., Clausen, P. T. L. C., Vogt, J. K., Leekitcharoenphon, P., van de Schans, M. G. M., Zuidema, T., de Roda Husman, A. M., Rasmussen, S., Petersen, B., ... Aarestrup, F. M. (2019). Global monitoring of antimicrobial resistance based on metagenomics analyses of urban sewage. *Nature Communications*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08853-3>

- Ibrahim, E., Mkwanda, C., Masoambeta, E., Scudeller, L., Kostyanev, T., Twabi, H. H., Diness, Y. K., Chinkhumba, J., Musaya, J., Mkakosya, R. S., Malhotra-Kumar, S., Morel, C. M., Kumwenda, S., & Msefula, C. L. (2025). Prevalence of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter cloacae* in Wastewater Effluent in Blantyre, Malawi. *Antibiotics*, *14*(6), 1–14. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14060562>
- INSPI. (2018). Reporte de datos de resistencia a los antimicrobianos en Ecuador. *Ministerio de Salud Publica*, *2*(1), 1–10. [https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2019/08/gaceta\\_ram2018.pdf](https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2019/08/gaceta_ram2018.pdf)
- Jamrin, N. F. A., Suhaimi, N., Zulkifli, M. Z. I., & Yusof, N. A. (2022). Presumptive Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Isolated in Drinking Water and Soil Sources from Kadamaian, Sabah. *MedRxiv*, 2022.03.20.22272634. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2022.03.20.22272634v1%0Ahttps://www.medrxiv.org/content/10.1101/2022.03.20.22272634v1.abstract>
- Jimenez Quiceno, J. N., & Rodríguez, E. A. (2023). Resistencia bacteriana en ambientes acuáticos: origen e implicaciones para la salud pública. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, *41*(3), e351453. <https://doi.org/10.17533/udea.rfnsp.e351453>
- Kalli, M., Kontogiannatos, D., Koi, A. M., Angeli, M., Noutsopoulos, C., Georgakopoulos, D. G., Malamis, S., & Mamais, D. (2025). Removal of Antibiotic Resistant Bacteria and Genes by Conventional and Nature-Based Municipal Wastewater Treatment Systems. *Environmental Processes*, *12*(2), 1–30. <https://doi.org/10.1007/s40710-025-00779-x>
- Kalli, M., Noutsopoulos, C., & Mamais, D. (2023). The Fate and Occurrence of Antibiotic-Resistant Bacteria and Antibiotic Resistance Genes during Advanced Wastewater Treatment and Disinfection: A Review. *Water (Switzerland)*, *15*(11). <https://doi.org/10.3390/w15112084>
- Karkman, A., Pärnänen, K., & Larsson, D. G. J. (2019). Fecal pollution can explain antibiotic resistance gene abundances in anthropogenically impacted environments. *Nature Communications*, *10*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07992-3>
- Kazemian, H., Heidari, H., Ghanavati, R., Mohebi, R., Ghafourian, S., Shavalipour, A., Taji, A., & Houri, H. (2016). Characterization of antimicrobial resistance pattern and molecular analysis among extended spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli*. *Pharmaceutical Sciences*, *22*(4), 279–284. <https://doi.org/10.15171/PS.2016.43>
- Lan, L., Wang, Y., Chen, Y., Wang, T., Zhang, J., & Tan, B. (2025). A Review on the Prevalence and Treatment of Antibiotic Resistance Genes in Hospital Wastewater. *Toxics*, *13*(4), 1–18. <https://doi.org/10.3390/toxics13040263>
- Li, J., Zhou, L., Zhang, X., Xu, C., Dong, L., & Yao, M. (2016). Bioaerosol emissions and detection of airborne antibiotic resistance genes from a wastewater treatment plant. *Atmospheric Environment*, *124*, 404–412. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.06.030>
- Li, Q., Chang, W., Zhang, H., Hu, D., & Wang, X. (2019). The role of plasmids in the

- multiple antibiotic resistance transfer in ESBLs-producing *Escherichia coli* isolated from wastewater treatment plants. *Frontiers in Microbiology*, 10(APR), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00633>
- Li, S., Ondon, B. S., Ho, S. H., Jiang, J., & Li, F. (2022). Antibiotic resistant bacteria and genes in wastewater treatment plants: From occurrence to treatment strategies. *Science of the Total Environment*, 838(March), 156544. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156544>
- Li, X., Fan, H., Zi, H., Hu, H., Li, B., Huang, J., Luo, P., & Zeng, X. (2022). Global and Regional Burden of Bacterial Antimicrobial Resistance in Urinary Tract Infections in 2019. *Clinical Medicine Article*, 1–14. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/jcm11102817>
- Liu, L., Guang, S. Bin, Xin, Y., Li, J., Lin, G. F., Zeng, L. Q., He, S. Q., Zheng, Y. M., Chen, G. Y., & Zhao, Q. B. (2023). Antibiotic resistant genes profile in the surface water of subtropical drinking water river-reservoir system. *Environmental Pollution*, 337(September), 122619. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.122619>
- Ma, J., Cui, Y., Li, A., Zou, X., Ma, C., & Chen, Z. (2022). Antibiotics and antibiotic resistance genes from wastewater treated in constructed wetlands. *Ecological Engineering*, 177(18), 106548. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2022.106548>
- Machado, E. C., Freitas, D. L., Leal, C. D., de Oliveira, A. T., Zerbini, A., Chernicharo, C. A., & de Araújo, J. C. (2023). Antibiotic resistance profile of wastewater treatment plants in Brazil reveals different patterns of resistance and multi resistant bacteria in final effluents. *Science of the Total Environment*, 857(October 2022). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159376>
- MacWilliams, M. P. (2009). Indole Test Protocol. *American Society for Microbiology for Microbiology*, December 2009, 1–9.
- Marín, M., & Gudío, F. (2003). *Antibióticos betalactámicos*. 21(1), 42–55.
- Martínez, R., & Villalobos, L. (2008). ALIMENTOS Y AGUAS RESIDUALES EN CUMANÁ, VENEZUELA ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF *Escherichia coli* STRAINS ISOLATED FROM FOOD AND. *Revista Multidisciplinaria Del Consejo de Investigación de La Universidad de Oriente*, 20(2), 172–176. <https://www.redalyc.org/pdf/4277/427739434007.pdf>
- Martínez, A., Garza, U., Sampedro, M., González, J., Nava, G., & Toribio, J. (2020). Patotipos y resistencia a antibióticos de. *Internacional de Contaminación Ambiental*, 36(3), 957–966. <https://doi.org/10.20937/RICA.53711>
- Mathers, A. J., Peirano, G., & Pitout, J. D. D. (2015). The role of epidemic resistance plasmids and international high- risk clones in the spread of multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3), 565–591. <https://doi.org/10.1128/CMR.00116-14>
- Mendez, L., & Sosa, L. (2019). Propuestas de mejora para la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) de una empresa del sector cosmético. *Fundación Universidad de América*, 199.

- Mendoza P., N. (2006). Penicilina. *Medigraphic*, 49(4), 169–171.  
<https://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2006/un064j.pdf>
- Ministerio del Ambiente. (2015). Revisión del anexo 1 del libro vi del texto unificado de legislación secundaria del ministerio del ambiente: norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes al recurso agua. *Registro Oficial No. 387, 97*, 1–40.  
<http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ecu155128.pdf>
- Mir, R. A., Weppelmann, T. A., Johnson, J. A., Archer, D., Morris, J. G., & Jeong, K. C. C. (2016). Identification and characterization of cefotaxime resistant bacteria in beef cattle. *PLoS ONE*, 11(9), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163279>
- Muhamad Hendri, N. A., Nor Amdan, N. A., Dounis, S. O., Sulaiman Najib, N., & Louis, S. R. (2024). Ultrastructural and morphological studies on variables affecting *Escherichia coli* with selected commercial antibiotics. *The Cell Surface*, 11(January), 100120. <https://doi.org/10.1016/j.tcs.2024.100120>
- Mutuku, C., Gazdag, Z., & Melegh, S. (2022). Occurrence of antibiotics and bacterial resistance genes in wastewater: resistance mechanisms and antimicrobial resistance control approaches. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 38(9), 1–27. <https://doi.org/10.1007/s11274-022-03334-0>
- Nguyen, A. Q., Vu, H. P., Nguyen, L. N., Wang, Q., Djordjevic, S. P., Donner, E., Yin, H., & Nghiem, L. D. (2021). Monitoring antibiotic resistance genes in wastewater treatment: Current strategies and future challenges. *Science of the Total Environment*, 783, 146964. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146964>
- Oliveira, M., Truchado, P., Cordero-García, R., Gil, M. I., Soler, M. A., Rancaño, A., García, F., Álvarez-Ordóñez, A., & Allende, A. (2023). Surveillance on ESBL-*Escherichia coli* and Indicator ARG in Wastewater and Reclaimed Water of Four Regions of Spain: Impact of Different Disinfection Treatments. *Antibiotics*, 12(2). <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020400>
- OMS. (2016). *Plan De Acción Mundial Sobre La Resistencia a Los Antimicrobianos*.
- Paray, A. A., Singh, M., & Amin Mir, M. (2023). Gram Staining: A Brief Review. *International Journal of Research and Review*, 10(9), 336–341.  
<https://doi.org/10.52403/ijrr.20230934>
- Paśmionka, I. B., Bulski, K., Herbut, P., Boligłowa, E., Vieira, F. M. C., Bonassa, G., De Prá, M. C., & Bortoli, M. (2021). Evaluation of the effectiveness of the activated sludge process in the elimination both atb-resistant and atb-susceptible *E. coli* strains. *Energies*, 14(18). <https://doi.org/10.3390/en14185868>
- Paterson, D. L. (2006). Resistance in Gram-Negative Bacteria: Enterobacteriaceae. *American Journal of Medicine*, 119(6 SUPPL. 1), 20–28.  
<https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2006.03.013>
- Pazda, M., Kumirska, J., Stepnowski, P., & Mulkiewicz, E. (2019). Antibiotic resistance genes identified in wastewater treatment plant systems – A review. *Science of the Total Environment*, 697, 134023. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134023>

- Pérez, R. D. C., & Sosa, E. A. E. (2010). Evaluación de la tolerancia a la crioconservación de dos cepas de *Escherichia coli* K12 de uso frecuente en biotecnología. *Vaccimonitor*, *19*(2), 11–17. <http://scielo.sld.cu/pdf/vac/v19n2/vac03210.pdf>
- Pintor-Cora, A., Álvaro-Llorente, L., Otero, A., Rodríguez-Calleja, J. M., & Santos, J. A. (2021). Extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae in fresh produce. *Foods*, *10*(11), 4–11. <https://doi.org/10.3390/foods10112609>
- Plasencia, B. A. J. (2020). “*CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS DE Escherichia coli PRODUCTORES DE B-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN VEGETALES CRUDOS COMERCIALIZADOS EN IBARRA*” TRABAJO [Universidad Técnica Del Norte]. [https://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/10234/2/03 BIOT 012 TRABAJO GRADO.pdf](https://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/10234/2/03%20BIOT%20012%20TRABAJO%20GRADO.pdf)
- Pozo, J. (2020). “*PROCESO DE DESINFECCIÓN DE AGUAS RESIDUALES MEDIANTE LA FOTOCATÁLISIS CON ÓXIDO DE TITANIO.*” *2507*(February), 1–9.
- Ranjbar, R., & Alam, M. (2023). Antimicrobial Resistance Collaborators (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Evidence - Based Nursing*, *24*(October), 149–154. <https://doi.org/https://doi.org/10.1136/ebnurs-2022-103540>
- Rodríguez-Molina, D., Mang, P., Schmitt, H., Chifiriuc, M. C., Radon, K., & Wengenroth, L. (2019). Do wastewater treatment plants increase antibiotic resistant bacteria or genes in the environment? Protocol for a systematic review. *Systematic Reviews*, *8*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s13643-019-1236-9>
- Rodríguez-Mozaz, S., Chamorro, S., Martí, E., Huerta, B., Gros, M., Sánchez-Melsió, A., Borrego, C. M., Barceló, D., & Balcázar, J. L. (2015). Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in hospital and urban wastewaters and their impact on the receiving river. *Water Research*, *69*, 234–242. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.11.021>
- Salvia, T., Dolma, K. G., Dhakal, O. P., Khandelwal, B., & Singh, L. S. (2022). Phenotypic Detection of ESBL, AmpC, MBL, and Their Co-occurrence among MDR Enterobacteriaceae Isolates. *Journal of Laboratory Physicians*, *14*(03), 329–335. <https://doi.org/10.1055/s-0042-1744239>
- Sánchez Neira, Y., Ferrebuz Cardozo, A. J., Gonzáles Torres, F. J., & Urbano Cáceres, E. X. (2020). Genes de resistencia en cepas bacterianas asociadas a infecciones en una institución prestadora de servicios de salud del departamento de Boyacá. *Revista Salud Uninorte*, *36*(2), 394–411. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-55522020000200394&lng=en&nrm=iso&tlng=es%0Ahttp://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0120-55522020000200394&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-55522020000200394&lng=en&nrm=iso&tlng=es%0Ahttp://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-55522020000200394&lng=en&nrm=iso&tlng=es)
- Sawa, T., Kooguchi, K., & Moriyama, K. (2020). Molecular diversity of extended-

- spectrum  $\beta$ -lactamases and carbapenemases, and antimicrobial resistance. *Journal of Intensive Care*, 8(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s40560-020-0429-6>
- Sayerh, F., Mouhir, L., Saafadi, L., Nassri, I., Ouardi, A. El, & Ameer, N. (2025). Analysis of pathogenic microorganisms in hospital effluents: A statistical approach to understanding antibiotic resistance and environmental health risks. *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management*, 23(January), 101059. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2025.101059>
- Schwermer, C. U., Krzeminski, P., & Wennberg, A. C. (2018). *A ccepted Manuscript* This is an Accepted Manuscript of the following article : 77(February), 1115–1126.
- Serwecinska, L. (2020). Antimicrobials and Antibiotic-Resistant Bacteria: A Risk to the Environment and to Public Health. *Water*, 12, 3313–3330.
- Shin, H., Kim, Y., Raza, S., Unno, T., Ryu, S. H., & Hur, H. G. (2022). Dynamics of Genotypic and Phenotypic Antibiotic Resistance in a Conventional Wastewater Treatment Plant in 2 Years. *Frontiers in Microbiology*, 13(August), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.898339>
- Silva, I., Tacão, M., Tavares, R. D. S., Miranda, R., Araújo, S., Manaia, C. M., & Henriques, I. (2018). Fate of cefotaxime-resistant Enterobacteriaceae and ESBL-producers over a full-scale wastewater treatment process with UV disinfection. *Science of the Total Environment*, 639, 1028–1037. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.229>
- Sivakumar, M., Abass, G., Vivekanandhan, R., Anukampa, Singh, D. K., Bhilegaonkar, K., Kumar, S., Grace, M. R., & Dubal, Z. (2021). Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing and multidrug-resistant *Escherichia coli* in street foods: a public health concern. *Journal of Food Science and Technology*, 58(4), 1247–1261. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04634-9>
- Suárez, C., & Gudiol, F. (2009). Beta-lactam antibiotics. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 27(2), 116–129. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2008.12.001>
- Sun, Y., Chen, Z., Wu, G., Wu, Q., Zhang, F., Niu, Z., & Hu, H. Y. (2016). Characteristics of water quality of municipal wastewater treatment plants in China: Implications for resources utilization and management. *Journal of Cleaner Production*, 131, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.05.068>
- Tamayo Trujillo, V. R., Guevara Ramírez, A. P., Cadena Ullauri, S. A., Paz Cruz, E. A., Ruiz Pozo, V. A., & Zambrano Espinosa, A. K. (2022). Genes involucrados con resistencia antimicrobiana en hospitales del Ecuador. *Cambios*, 21(2), 1–7. <https://revistahcam.iess.gob.ec/index.php/cambios/issue/archive>
- Tellez-Carrasquilla, S., Rodríguez, E. A., & Jiménez, J. N. (2023). Alta frecuencia de bacilos Gram negativos de importancia clínica resistentes a betalactámicos en efluentes de aguas residuales hospitalarias. *Infectio*, 27(2), 78–85. <https://doi.org/10.22354/24223794.1126>
- Tiwari, A., Kurittu, P., Al-Mustapha, A. I., Heljanko, V., Johansson, V., Thakali, O., Mishra, S. K., Lehto, K. M., Lipponen, A., Oikarinen, S., Pitkänen, T., &

- Heikinheimo, A. (2022). Wastewater surveillance of antibiotic-resistant bacterial pathogens: A systematic review. *Frontiers in Microbiology*, *13*(December), 1–19. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.977106>
- Tolenada, C. P. S., & Dayrit, G. B. (2023). Presence of blaCTXM-1, blaCTXM-9, and blaTEM-1 Genes in Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* Isolates from Hospital Wastewater. *Indonesian Biomedical Journal*, *15*(5), 278–287. <https://doi.org/10.18585/INABJ.V15I5.2531>
- Triggiano, F., Calia, C., Diella, G., Montagna, M. T., De Giglio, O., & Caggiano, G. (2020). The role of urban wastewater in the environmental transmission of antimicrobial resistance: the current situation in Italy (2010–2019). *Microorganisms*, *8*(10), 1–12. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101567>
- Tsvetanova, Z., & Boshnakov, R. (2025). Antimicrobial Resistance of Waste Water Microbiome in an Urban Waste Water Treatment Plant. *Water (Switzerland)*, *17*(1), 12–15. <https://doi.org/10.3390/w17010039>
- Uluseker, C., Kaster, K. M., Thorsen, K., Basiry, D., Shobana, S., Jain, M., Kumar, G., Kommedal, R., & Pala-Ozkok, I. (2021). A Review on Occurrence and Spread of Antibiotic Resistance in Wastewaters and in Wastewater Treatment Plants: Mechanisms and Perspectives. *Frontiers in Microbiology*, *12*(October). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.717809>
- Ventola, L. (2015). The Antibiotics Resistance Crisis. Part 1: Causes and Threats. *Comprehensive Biochemistry*, *11*(4), 181–224. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4831-9711-1.50022-3>
- Vila, J., Sáez-López, E., Johnson, J. R., Römling, U., Dobrindt, U., Cantón, R., Giske, C. G., Naas, T., Carattoli, A., Martínez-Medina, M., Bosch, J., Retamar, P., Rodríguez-Banõ, J., Baquero, F., & Soto, S. M. (2016). *Escherichia coli*: An old friend with new tidings. *FEMS Microbiology Reviews*, *40*(4), 437–463. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuw005>
- Villarreal, W. (2015). “DISEÑO PARA LA IMPLEMENTACIÓN DEL SISTEMA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES EN EL ESTADIO DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE, CANTÓN IBARRA PROVINCIA IMBABURA.” [https://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/4326/1/03\\_RNR\\_191\\_TESIS.pdf](https://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/4326/1/03_RNR_191_TESIS.pdf)
- Wang, J., & Chen, X. (2022). Removal of antibiotic resistance genes (ARGs) in various wastewater treatment processes: An overview. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, *52*(4), 571–630. <https://doi.org/10.1080/10643389.2020.1835124>
- Wang, J., Chu, L., Wojnárovits, L., & Takács, E. (2020). Occurrence and fate of antibiotics, antibiotic resistant genes (ARGs) and antibiotic resistant bacteria (ARB) in municipal wastewater treatment plant: An overview. *Science of the Total Environment*, *744*, 140997. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140997>
- Wen, L., Cui, Y., Huang, L., Wei, C., Wang, G., Zhang, J., Jiang, Y., Wei, Y., & Shen, P. (2024). Changes of composition and antibiotic resistance of fecal coliform

- bacteria in municipal wastewater treatment plant. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 146, 241–250. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2023.09.012>
- Wengenroth, L., Berglund, F., Blaak, H., Chifiriuc, M. C., Flach, C. F., Pircalabioru, G. G., Joakim Larsson, D. G., Marutescu, L., van Passel, M. W. J., Popa, M., Radon, K., Husman, A. M. de R., Rodríguez-Molina, D., Weinmann, T., Wieser, A., & Schmitt, H. (2021). Antibiotic resistance in wastewater treatment plants and transmission risks for employees and residents: The concept of the aware study. *Antibiotics*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050478>
- Xia, Y., Wen, X., Zhang, B., & Yang, Y. (2018). Diversity and assembly patterns of activated sludge microbial communities: A review. *Biotechnology Advances*, 36(4), 1038–1047. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.03.005>
- Yao, S., Ye, J., Yang, Q., Hu, Y., Zhang, T., Jiang, L., Munezero, S., Lin, K., & Cui, C. (2021). Occurrence and removal of antibiotics, antibiotic resistance genes, and bacterial communities in hospital wastewater. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(40), 57321–57333. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14735-3>
- Yauri Bucheli, M. F. (2021). Caracterización molecular de genes de resistencia a  $\beta$ -lactámicos en aislados bacterianos clínicos de la familia Enterobacteriaceae. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, 42(1), 63–77. <https://doi.org/10.26807/remcb.v42i1.886>
- Yin, X., Yang, Y., Deng, Y., Huang, Y., Li, L., Chan, L. Y. L., & Zhang, T. (2022). An assessment of resistome and mobilome in wastewater treatment plants through temporal and spatial metagenomic analysis. *Water Research*, 209(June 2021), 117885. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117885>
- Zhang, S., Huang, J., Zhao, Z., Cao, Y., & Li, B. (2020). Hospital Wastewater as a Reservoir for Antibiotic Resistance Genes: A Meta-Analysis. *Frontiers in Public Health*, 8(October), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.574968>

## ANEXOS

### Anexo 1.-

*Análisis estadístico de recuentos de E. coli total (en medio TBX) por punto de muestreo y mes*

<b>Punto de Muestreo</b>	<b>Mes</b>	<b>N</b>	<b>Media (UFC/ml)</b>	<b>D.E.</b>	<b>Mediana (UFC/ml)</b>	<b>Grupo Estadístico*</b>
<b>Salida</b>	Septiembre	3	135,333	14,189	138,000	A
<b>Salida</b>	Octubre	3	142,000	13,528	141,000	A
<b>Ripio</b>	Octubre	3	149,000	14,799	156,000	A
<b>Ripio</b>	Septiembre	3	174,667	7,234	171,000	A B
<b>Aireación</b>	Septiembre	3	191,333	5,859	189,000	A B
<b>Entrada</b>	Octubre	3	235,333	11,015	230,000	B
<b>Entrada</b>	Septiembre	3	235,000	34,771	240,000	B
<b>Aireación</b>	Octubre	3	247,000	8,660	242,000	B

### Anexo 2.-

*Análisis estadístico de recuentos de E. coli total (en medio TBX+ CTX) por punto de muestreo y mes*

<b>Punto de Muestreo</b>	<b>Mes</b>	<b>N</b>	<b>Media (UFC/ml)</b>	<b>D.E.</b>	<b>Mediana (UFC/ml)</b>	<b>Grupo Estadístico*</b>
<b>Ripio</b>	<b>Octubre</b>	<b>3</b>	<b>22,333</b>	<b>5,033</b>	<b>23,000</b>	<b>A</b>
<b>Ripio</b>	Septiembre	3	33,000	2,646	34,000	A B
<b>Aireación</b>	Septiembre	3	64,667	14,154	57,000	A B C
<b>Salida</b>	Septiembre	3	83,000	7,810	87,000	B C D
<b>Aireación</b>	Octubre	3	85,000	14,000	85,000	B C D
<b>Salida</b>	Octubre	3	86,333	2,517	86,000	B C D
<b>Entrada</b>	Septiembre	3	87,333	4,041	88,000	C D
<b>Entrada</b>	Octubre	3	111,000	14,000	117,000	D

**Anexo 3.-** Mapa de calor de los aislados de septiembre (S) y octubre (O). Se muestra los 16 antibióticos Ciprofloxacina (CIP), Levofloxacina (LEV), Cefepime (FEP), Cefotaxima (CTX), Ceftazidima (CAZ), Amoxicilina/ácido clavulánico (AMC), Piperacilina/tazobactam (TZP), Cefoxitina (FOX), Ertapenem (ETP), Tetraciclina (TE), Amikacina (AK), Gentamicina (CN), Tigeciclina (TGC), Fosfomicina/trometamol (FOT), Nitrofurantoina (F) y Sulfametoxazol/trimetoprima (SXT).. Se asigna un color a las zonas de inhibición: Verde para sensible (S), anaranjado para intermedio (I), verde menta para susceptible dependiente de la dosis (SDD) y rojo para resistente (R)

Mes	Código	CIP	LEV	FEP	CTX	CAZ	AMC	TZP	FOX	ETP	TE	AK	CN	TGC	FOT	F	SXT
S	M1E1	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R
S	M1E2	I	I	R	R	R	I	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
S	M1E3	I	I	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
S	M2E1	I	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
S	M2E2	I	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R
S	M2E3	R	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R
S	M3E1	S	S	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
S	M3E2	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
S	M3E3	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R
S	M1O1	I	S	R	R	R	S	R	R	R	S	R	R	R	S	S	R
S	M1O2	I	S	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
S	M1O3	I	I	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R
S	M2O1	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R
S	M2O2	R	R	R	R	R	R	S	I	R	S	R	R	R	R	S	R
S	M2O3	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R
S	M3O1	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R
S	M3O2	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
S	M3O3	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
S	M1R1	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	S	S	R	R	S	R
S	M1R2	R	R	S	R	R	R	S	I	R	R	R	R	S	S	S	R
S	M1R3	R	I	S	R	R	R	S	S	S	S	R	S	R	R	S	R
S	M2R1	S	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R
S	M2R2	I	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R
S	M2R3	I	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
S	M3R1	R	R	S	R	S	I	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R
S	M3R2	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

S	M3R3	Red	Red	Light Green	Red	Green	Orange	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Green	Red
S	M1S1	Red	Red	Red	Red	Green	Orange	Light Green	Green	Green	Red	Orange	Green	Red	Red	Green
S	M1S2	Green	Green	Light Green	Red	Green	Green	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Green	Green
S	M1S3	Orange	Green	Light Green	Red	Green	Orange	Light Green	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Red	Green
S	M2S1	Red	Red	Light Green	Red	Green	Orange	Green	Green	Green	Orange	Green	Green	Red	Red	Green
S	M2S2	Red	Red	Red	Red	Red	Green	Red	Orange	Green	Red	Orange	Green	Red	Red	Orange
S	M2S3	Green	Red	Light Green	Red	Green	Red	Light Green	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Red	Green
S	M3S1	Orange	Green	Light Green	Red	Green	Green	Green	Green	Green	Red	Orange	Orange	Green	Red	Orange
S	M3S2	Orange	Red	Light Green	Red	Green	Green	Light Green	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Green	Green
S	M3S3	Green	Green	Light Green	Red	Green	Green	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Green	Green
O	M1E1	Red	Red	Red	Red	Green	Green	Green	Green	Green	Red	Orange	Green	Red	Red	Green
O	M1E2	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Green	Green	Green	Red	Orange	Green	Red	Red	Green
O	M1E3	Green	Green	Light Green	Red	Green	Orange	Green	Green	Green	Red	Orange	Green	Red	Red	Green
O	M2E1	Orange	Green	Red	Red	Orange	Green	Light Green	Green	Green	Red	Orange	Green	Red	Red	Green
O	M2E2	Green	Green	Red	Red	Green	Orange	Red	Green	Green	Red	Orange	Green	Red	Red	Orange
O	M2E3	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Light Green	Green	Green	Red	Orange	Green	Red	Red	Green
O	M3E1	Red	Red	Light Green	Red	Orange	Red	Green	Green	Green	Red	Orange	Green	Red	Green	Green
O	M3E2	Red	Orange	Light Green	Red	Green	Orange	Light Green	Green	Green	Red	Red	Red	Red	Red	Green
O	M3E3	Orange	Green	Red	Red	Green	Green	Green	Green	Green	Red	Orange	Green	Red	Red	Green
O	M1O1	Red	Red	Light Green	Red	Green	Green	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Red	Green
O	M1O2	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Red	Green
O	M1O3	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Red	Green
O	M2O1	Red	Red	Light Green	Red	Green	Green	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Red	Green
O	M2O2	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Red	Green
O	M2O3	Red	Red	Light Green	Red	Green	Orange	Green	Green	Green	Red	Orange	Green	Red	Red	Green
O	M3O1	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Red	Green
O	M3O2	Red	Red	Light Green	Red	Green	Orange	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Red	Green
O	M3O3	Green	Green	Red	Red	Green	Green	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Red	Green
O	M1R1	Red	Red	Red	Red	Green	Orange	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Red	Orange
O	M1R2	Green	Green	Light Green	Red	Green	Green	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Red	Green
O	M1R3	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Red	Green
O	M2R1	Green	Green	Red	Red	Orange	Green	Light Green	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Red	Green
O	M2R2	Green	Green	Light Green	Red	Green	Green	Green	Green	Green	Red	Orange	Green	Red	Red	Green
O	M2R3	Red	Red	Green	Red	Green	Orange	Light Green	Green	Green	Red	Green	Orange	Red	Red	Green
O	M3R1	Red	Red	Light Green	Red	Green	Green	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Red	Green
O	M3R2	Orange	Green	Light Green	Red	Green	Orange	Light Green	Green	Green	Red	Orange	Green	Red	Red	Green
O	M3R3	Orange	Green	Light Green	Red	Green	Green	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Red	Green
O	M1S1	Red	Red	Light Green	Red	Green	Green	Light Green	Green	Green	Red	Orange	Red	Red	Red	Green
O	M1S2	Orange	Green	Red	Red	Green	Green	Green	Green	Green	Red	Red	Green	Red	Red	Green

O	M1S3	Red	Red	Light Green	Red	Green	Orange	Red	Green	Green	Red	Orange	Green	Red	Green	Green	Red
O	M2S1	Red	Red	Green	Red	Green	Green	Light Green	Green	Green	Red	Green	Red	Red	Red	Green	Red
O	M2S2	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Red
O	M2S3	Red	Red	Red	Red	Green	Green	Light Green	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Red	Green	Red
O	M3S1	Green	Green	Light Green	Red	Green	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Red
O	M3S2	Green	Green	Light Green	Red	Green	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Red	Red	Green	Red	Red
O	M3S3	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Orange	Green	Green	Red	Red