



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Trabajo de fin de Carrera titulado:

“Identificación de genes de Resistencia Antimicrobiana en Bacterias Aisladas de Comida Callejera del Centro del Distrito Metropolitano de Quito mediante análisis microbiológicos y moleculares”

Realizado por:

Daniela Brborich Boda

Directores del proyecto:

Ing. Andrés Herrera Yela, MSc.

Dámaris Priscila Intriago Baldeón, MSc.

Como requisito para la obtención del título de:

INGENIERO/A EN BIOTECNOLOGÍA

QUITO, 21 de marzo del 2025

DECLARACIÓN JURAMENTADA

Yo, Daniela Lizette Brborich Boada, ecuatoriano/a, con Cédula de ciudadanía N° 1722947569, declaro bajo juramento que el trabajo aquí desarrollado es de mi autoría, que no ha sido presentado anteriormente para ningún grado o calificación profesional, y se basa en las referencias bibliográficas descritas en este documento.

A través de esta declaración, cedo los derechos de propiedad intelectual a la UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK, según lo establecido en la Ley de Propiedad Intelectual, reglamento y normativa institucional vigente.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Daniela Lizette Brborich Boada', with a decorative flourish at the end.

Daniela Lizette Brborich Boada

C.I.: 1722947569

DECLARACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación.

Ing. Manuel Andrés Herrera Yela MSc.

Dámaris Priscila Intriago Baldeón MSc.

LOS PROFESORES INFORMANTES:

PhD. Juan Carlos Navarro

MSc.. Alexander Maldonado.

Después de revisar el trabajo presentado lo han calificado como apto para su defensa
oral ante el tribunal examinador.

PhD. Juan Carlos Navarro

MSc. Alexander Maldonado.

Quito, 21 de marzo de 2025

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Daniela Lizette Brborich Boada'. The signature is fluid and cursive, with a prominent flourish at the end.

Daniela Lizette Brborich Boada

C.I.: 1722947569

Agradecimientos

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a la **Universidad Internacional SEK**, por brindarme la oportunidad de formarme profesional y personalmente durante estos años. Han proporcionado un espacio de crecimiento académico que me ha permitido desarrollar habilidades, conocimientos y valores fundamentales para mi vida profesional.

Agradezco de manera especial a la **Dirección de Investigación de la Universidad Internacional SEK** por su constante apoyo y por fomentar un entorno que promueve la generación de conocimiento y el desarrollo científico. Su respaldo fue fundamental para la realización de este trabajo de tesis.

Extiendo mi gratitud a mis **tutores, Andrés Herrera y Dámaris Intriago**, por su guía, orientación y valiosos aportes en cada etapa de este proyecto. Su compromiso, paciencia y conocimientos fueron clave para alcanzar los objetivos propuestos.

También quiero agradecer a todos los miembros del **Proyecto de RAM en comida callejera: Jaime Acosta, Alexander Maldonado, Macarena Benítez y Genevieve Ojeda**, quienes con sus aportes, ideas y apoyo contribuyeron al desarrollo de este trabajo. Su participación fue esencial para llevar a cabo este proceso de forma enriquecedora y colaborativa.

A todos ustedes, muchas gracias.

Dedicatoria

Quisiera agradecer a mis papás por ser parte de este proceso, por siempre apoyarme en cada decisión que he tomado, por su incansable esfuerzo y enseñanzas que me han regalado.

A mi papá por enseñarme a mantenerme serena en momentos adversos, siempre respetar mis principios y ser firme en lo que creo y lo que soy.

A mi mamá por todos los actos de amor y cariño que recibo todos los días, por siempre estar dispuesta a ayudarme, brindarme un hombro para llorar o un abrazo de corazón.

A mi hermana mayor Tania por siempre ser mi brújula y consejera en todo lo que hago, por enseñarme a ser valiente y pelear por lo que quiero.

A mi hermana menor Denisse por ser mi confidente y mi alegría cuando las cosas son difíciles, por siempre estar ahí para mí, y compartir todo

A mi compañera de carrera y tesis, Macarena, por compartir esta etapa tan desafiante conmigo, y siempre estar dispuesta a escucharme y ayudarme, por compartir, entre risas y lágrimas lo bueno y lo malo.

Resumen

La resistencia antimicrobiana (RAM) es un problema de salud pública creciente, especialmente en la comida callejera, donde se ha identificado la presencia de bacterias resistentes a antibióticos. Este estudio se centra en identificar genes de resistencia provenientes de bacterias aisladas de comida callejera en el centro del Distrito Metropolitano de Quito, Ecuador, para la determinación de una posible fuente de propagación de bacterias multirresistentes. Para esto, se tomaron seis muestras de comida callejera de diferente tipo y ubicación y se las sembró en medios selectivos para Enterobacterales enriquecidos con antibióticos (cefepime 100ug/mL y colistina 100ug/mL). Posteriormente, se realizaron antibiogramas y pruebas de concentración mínima inhibitoria para aislar bacterias resistentes y secuenciarlas con Secuenciación de Nueva Generación por medio de Illumina. Los resultados mostraron que el 100% de las muestras contenían Enterobacterales y colonias resistentes a colistina. Se observó una resistencia total para amoxicilina y ácido clavulánico, resistencia variada para cefalosporinas de segunda y cuarta generación. No se detectó resistencia a carbapenémicos, pero la mayoría de las muestras mostraron crecimiento en concentraciones críticas de colistina. Se identificaron genes de resistencia a betalactámicos (*AmpC*, *bla1*, *bla2*, *ompW*), colistina (*eptA-pmrAB* y *arnBCADTEF*), y múltiples antibióticos (*MdtABC-TolC*, *AcrAB-TolC*), así como factores de virulencia relacionados con la adhesión e invasión bacteriana. Este estudio resalta la importancia de la vigilancia microbiológica en la comida callejera, dado que estos alimentos pueden ser vectores de diseminación de bacterias multirresistentes. Los genes de RAM identificados pertenecen a bacterias entéricas no patógenas, lo que plantea que su nicho es la microbiota humana. Se recomienda ampliar el muestreo y establecer un sistema de vigilancia que adopte un enfoque One Health,

considerando factores ambientales, humanos y animales, para abordar la creciente amenaza de la RAM en la salud pública.

Palabras clave: Resistencia antimicrobiana, Comida callejera, Betalactámicos, Colistina

Abstract

Antimicrobial resistance (AMR) is an increasing public health problem, especially in street food, where the presence of antibiotic-resistant bacteria has been identified. This study focuses on identifying resistance genes from bacteria isolated from street food in the center of the Metropolitan District of Quito, Ecuador, to determine a possible source of dissemination of multidrug-resistant bacteria. For this purpose, six street food samples of different types and locations were collected and cultured on selective media for Enterobacterales enriched with antibiotics (cefepime and colistin 100 µg/mL both). Antibiograms and minimum inhibitory concentration (MIC) tests were performed to isolate resistant bacteria and sequence them using Next-Generation Sequencing (NGS) via Illumina technology. The results showed that 100% of the samples contained Enterobacterales and colistin-resistant colonies. Total resistance to amoxicillin and clavulanic acid was observed, along with variable resistance to second- and fourth-generation cephalosporins. No resistance to carbapenems was detected, but most samples showed growth at critical concentrations of colistin. Resistance genes were identified for beta-lactams (AmpC, bla1, bla2, ompW), colistin (eptA-pmrAB and arnBCADTEF), and multiple antibiotics (MdtABC-TolC, AcrAB-TolC), as well as virulence factors. This study highlights the importance of microbiological surveillance in street food, as these foods may serve as vectors for the dissemination of multidrug-resistant bacteria. The identified AMR genes belong to non-pathogenic enteric bacteria, suggesting that their ecological niche is the human microbiota. It is recommended to expand the sampling and establish a surveillance system adopting a One Health approach, considering environmental, human, and animal factors to address the growing threat of AMR to public health.

Keywords: Antimicrobial resistance, Street food, Beta-lactams, Colistin

Tabla de Contenido

1.	Introducción.....	8
1.1.	Antecedentes.....	9
1.1.1.	Resistencia antimicrobiana.....	9
1.1.2.	Resistencia a antibióticos y comida callejera.....	15
1.2.	Planteamiento del Problema.....	18
1.3.	Justificación.....	20
1.4.	Objetivos.....	21
1.4.1.	Objetivo general.....	21
1.4.2.	Objetivos Específicos:.....	22
2.	Metodología.....	23
2.1.	Muestreo en el centro del DMQ.....	23
2.1.1.	Preparación de Medio de Transporte (Agua Peptona Tamponada).....	23
2.1.2.	Delimitación de las zonas de muestreo y recolección de muestras.....	24
2.2.	Fase de análisis microbiológico.....	26
2.2.1.	Preparación de medios de cultivo selectivos.....	26
2.2.2.	Inoculación y Cultivo de Muestras en medios selectivos.....	27
2.2.3.	Aislamiento de colonias bacterianas Gram negativas y resistentes a antibióticos.....	27
2.2.4.	Barrido de agar XLD y cultivo con meropenem (MEM).....	28
2.2.5.	Dilución y conteo de colonias.....	28
2.2.6.	Selección de colonias según características en tinción Gram.....	28
2.3.	Pruebas de sensibilidad.....	29

2.3.1.	Antibiograma	29
2.3.2.	Prueba de Concentración Mínima Inhibitoria	29
2.4.	Fase de análisis molecular	29
2.4.1.	Extracción de ADN	30
2.4.2.	Secuenciación NGS y análisis bioinformático	30
3.	Resultados y Discusión.....	31
3.1.	Aislamiento de bacterias por medio de técnicas microbiológicas	31
3.2.	Caracterización de perfiles de resistencia a antimicrobianos	37
3.3.	Genes de resistencia antimicrobiana y factores de virulencia	42
3.3.1.	Genes de resistencia a diversos antibióticos.....	43
3.3.2.	Genes de resistencia a Polimixinas, Betalactámicos y múltiples antibióticos.....	45
3.3.3.	Factores de virulencia.....	56
3.3.4.	Elementos transponibles.....	61
3.3.5.	Evaluación del riesgo sanitario.....	64
3.4.	Limitaciones asociadas a este estudio y perspectivas futuras.....	68
3.	Conclusiones.....	69
4.	Recomendaciones	71
5.	Referencias	74

Lista de figuras

Figura 2.1: Fases metodológicas del proyecto para la detección de genes de resistencia en comida callejera del centro del DMQ.....	23
Figura 2.2: Mapa de Quito con la ubicación geográfica de los puntos de muestreo de alimentos.....	25
Figura 2.3: Flujo de procesamiento de las muestras obtenidas	26
Figura 3.1: Selección de cepas según características morfológicas y tinción Gram	36
Figura 3.2: Genes de resistencia a antibióticos por aislado bacteriano	44
Figura 3.3: Genes de resistencia a polimixinas, betalactámicos y múltiples antibióticos por aislado bacteriano	47
Figura 3.4: Factores de virulencia de cada aislado agrupados según su tipo de factor	59
Figura 3.5: Distribución de los genes de resistencia y virulencia de cada aislado	60
Figura 3.6: Árbol filogenético de las tres especies secuenciadas en este estudio	61
Figura 3.7: Elementos transponibles identificados en los aislados de este estudio clasificados por especie	63

Lista de tablas

Tabla 2.1: Matriz de muestreo con especificaciones de las muestras de comida callejera tomadas en el centro del DMQ.....	24
Tabla 3.1: Cantidad de muestras que evidenciaron crecimiento bacteriano en cada agar selectivo.....	31
Tabla 3.2: Cantidad de colonias fenotípicamente diferentes obtenidas de muestras de comida callejera de parques y plazas del centro del DMQ.....	34
Tabla 3.3: Resultados de antibiogramas considerando el halo de inhibición detectado y el punto de corte para cada muestra.....	38
Tabla 3.4: Resultados de CMI de colistina por aislado.....	41
Tabla 3.5: Lista de conjuntos de genes de resistencia a polimixinas, betalactámicos y múltiples fármacos.....	46
Tabla 3.6: Concordancia entre resultados fenotípicos y genotípicos.....	54
Tabla 3.8: Factores de virulencia identificados en cada aislado clasificados por su tipo.....	56

Lista de anexos

Anexo 1: Genes de resistencia a antibióticos encontrados en cada bacteria, clasificados por tipo de antibiótico al que dan resistencia.....	95
---	----

1.1. Antecedentes

1.1.1. Resistencia antimicrobiana

La resistencia antimicrobiana (RAM) se define como la capacidad de las bacterias de sobrevivir y reproducirse en presencia de un agente que evita o inhibe su crecimiento (OMS, 2021). El surgimiento y desarrollo de la RAM se debe al incremento de tasas de mutación y/o transferencia horizontal de genes causadas por una exposición de la bacteria a dosis no letales del antibiótico (Ponce de León Rosales et al., 2015; Rehman, 2023). En el día a día, una acelerada diseminación de bacterias con RAM puede afectar negativamente el avance de la medicina, logrando infecciones más invasivas y contagiosas, cuyo tratamiento se dificulta y alarga los tiempos de estadía en el hospital. Adicionalmente, los antibióticos usualmente prescritos tienden a perder su efecto de manera progresiva, transformando infecciones simples en potencialmente mortales y convirtiendo patologías en posibles nuevas pandemias. Por todo lo anterior, la RAM constituye uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial (Bello-Fernández et al., 2018).

En la actualidad, la resistencia a antibióticos se observa en la gran mayoría de especies de microorganismos; sin embargo, debido a su importancia epidemiológica, ciertas bacterias son más estudiadas que otras. En el año 2017, la OMS compartió una lista con los patógenos cuya vigilancia, por desarrollo de resistencia, debe ser mayor debido al nivel de peligro que representan para los seres humanos, las principales bacterias se describen con el acrónimo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomona aeruginosa*, y *Enterobacter* sp.) (Mancuso et al., 2021; Bello-Fernández et al., 2018). El segundo grupo de microorganismos, según su urgencia de estudio, agrupa bacterias con resistencias conocidas, entre ellas, *E. faecium* a la

vancomicina, *S. aureus* a la meticilina, *H. pylori* a la claritromicina, *Campylobacter* sp. a fluoroquinolonas y *Salmonella* sp a cefalosporinas. En el tercero y último grupo se encuentran bacterias multirresistentes: *Streptococcus*, *Haemophilus influenzae* y *Shigella* sp. las cuales presentan resistencia a la penicilina, ampicilina y fluoroquinolona (Acosta España, 2021).

De acuerdo con Michael et al. (2014) las causas por las que surge la RAM se las puede clasificar por su origen, en naturales o adquiridas. En primer lugar, la pérdida de sensibilidad de una bacteria a los fármacos es un mecanismo que puede originarse por mutaciones espontáneas o puede encontrarse en el cromosoma propio de la bacteria, y puede adquirirse por medio de elementos genéticos como los integrones, casetes genéticos, transposones y plásmidos, quienes resultan la fuerza central de la transferencia horizontal de genes entre cepas y especies bacterianas (Giacoboni et al., 2023). Fenotípicamente, estas alteraciones se traducen en estrategias como degradación enzimática de fármacos, nuevas vías metabólicas, formación de biofilms y alteraciones de proteínas de membrana como las bombas de eflujo que se encargan de expulsar antibióticos por fuera de la célula (Ferri et al., 2017).

Por otra parte, el desarrollo de la RAM atribuido a factores extrínsecos de las bacterias se relaciona con las actividades antropológicas. Varias investigaciones han catalogado el uso indebido e indiscriminado de antibióticos como el contribuyente principal a este problema ya que la constante exposición a estos agentes incrementa la probabilidad del desarrollo de resistencia (Velasco & Velasco, 2018; Jani et al., 2021; Michael et al., 2014; Prestinaci et al., 2015). Es importante recalcar que dentro del concepto de uso indiscriminado se incluye: consumo de antibióticos sin ser recetados, falta de cumplimiento en los tratamientos

prescritos y el uso de estos fármacos por un tiempo innecesariamente prolongado (Ferri et al., 2017). Adicionalmente, el efecto de la RAM se ve amplificado por el uso de antibióticos en las industrias agrícola y ganadera. De acuerdo con Ortega-Paredes et al. (2020), los antimicrobianos se usan en este ámbito como potenciadores de crecimiento de animales, y con fines profilácticos; incluso se ha confirmado que alrededor del 80 % de los antibióticos producidos en Estados Unidos son destinados a los animales de granjas productoras (Banco Mundial, 2017). Adicional a esto, las heces de estos animales suplementados con dichos fármacos son posteriormente usados como abono para el cultivo de diferentes vegetales, lo que extiende la diseminación de bacterias no solo a la comida de origen animal, sino también a productos de origen vegetal, contribuyendo en gran medida al desarrollo de resistencia (Chavarría et al., 2019).

Las consecuencias de esta situación son fácilmente perceptibles, en primer lugar, la RAM es la causante de alrededor de 700 000 muertes al año, y se estima que para el 2050, este número ascienda a 10 millones (Rehman, 2023; Paneri & Sevtá, 2023). De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (2021), la incidencia de infecciones urinarias, intestinales, sepsis y demás, han contribuido a la resistencia a diferentes antimicrobianos en los últimos años; entre ellos, los beta-lactámicos, antibióticos de amplio espectro y de último recurso, han presentado un efecto disminuido ante bacterias patógenas. Un estudio realizado por Santos (2020), pretendía identificar genes de resistencia a estos antibióticos provenientes de diferentes ambientes y demostró que el 74,28% de sus aislamientos de Enterobacterales poseía resistencia a ampicilina y el 62,58%, a amoxicilina con ácido clavulánico; igualmente, se detectó un aumento de los Enterobacterales resistentes a carbapenémicos (ERC) del 6,7% (2019) a 50% (2020).

Un estudio realizado por una red de colaboradores de investigación en RAM (Murray et al., 2022) detectó que, en 2019, 1.27 millones de muertes fueron directamente causadas por RAM, y 4,95 millones de personas tuvieron muertes atribuibles a este problema a nivel mundial. Considerado por regiones, África Subsahariana es la que más incidencia de muertes tiene, con alrededor de 118 muertes por cada 100 000 habitantes, mientras que la región de América Latina andina se encuentra en el puesto 12, con casi 60 muertes por cada 100 000 habitantes. A partir de ello, la Red Latinoamericana y Del Caribe de Vigilancia de la RAM (RELAVRA), ha sido designada por la Organización Panamericana de la Salud como una entidad auditora de la RAM en el continente. De acuerdo con dicha entidad, Latinoamérica presentaba la menor cantidad de planes de mitigación y control hasta el año 2015, que es la última información disponible, en comparación con otras regiones como Europa, donde hay planes de acción en el 43% de los países, o Asia, donde esta la proporción de países es del 45%. Igualmente, en Latinoamérica solo el 10 % de las naciones que conforman la RELAVRA han dirigido esfuerzos hacia la concientización de las personas sobre la RAM y sus efectos. Adicionalmente, en el 51 % de los países latinoamericanos, existe la venta libre de antibióticos (OMS, 2015). Por otra parte, en América Latina más del 50% de infecciones adquiridas en el área de cuidado intensivo hospitalario son causadas por bacterias con una tendencia a la extrema drogo-resistencia (Yu et al., 2021). Latinoamérica ha sido testigo del gran esparcimiento que la RAM ha tenido en la región, pues en la última década, investigaciones comprobaron el desarrollo y diseminación de diversas bacterias resistentes a antibióticos, por ejemplo, para *Helicobacter pylori* el rango de resistencia identificado en cada región, varió, así se observó que para Colombia hubo un 97,6 %, para México un 50 %, para Argentina un 38 % y para Jamaica un 33 %, entre otros. Igualmente se ha detectado

resistencia a la amoxicilina en: Brasil (38 %), Colombia (20,5 %) y México (18 %) (Palomino Castellano et al., 2024). Ante esta crisis, en la última década se han puesto en marcha programas de regulación del uso de antibióticos en al menos el 83 % de los países de la región; entre ellos, se ha evidenciado la prohibición de la colistina para el uso ganadero en cuatro países de la región y el estudio de diferentes genes causantes de RAM en varios laboratorios (da Silva et al., 2020).

El monitoreo de resistencia a antibióticos en Ecuador se realiza, en su mayoría, desde el ámbito clínico. El estado, por medio del Centro de Referencia Nacional de Resistencia Antimicrobiana (CRN-RAM), presentó su plan de vigilancia de RAM que estuvo activo desde el 2019 a 2023 (INSPI - Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública. -Dr. Leopoldo Izquieta Pérez, n.d.). Este plan se encarga de monitorear el aumento o descenso de cepas resistentes a partir de los lineamientos de la OMS: *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* (Acosta España, 2021); hasta la fecha, solo existe un folleto de información de resistencia y monitoreo rutinario de contaminación de alimentos, sobre todo a nivel industrial, más no existe información que indique el progreso de esta situación o datos estadísticos actuales de la RAM a nivel nacional. De acuerdo con la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA) (2024), las autoridades han planteado ciertos objetivos para manejar la situación de la RAM localmente, entre ellos, se encuentran: fomentar la concientización del tema en la población, esparciendo información útil al respecto (como por ejemplo la campaña “Tómalo en serio: La receta se respeta”, (Agencia Nacional de Regulación, 2024)); reforzar conocimientos científicos a partir de la vigilancia e investigación y reducir la incidencia de infecciones con medidas de saneamiento e higiene (Goyes-Baca et al., 2023). De acuerdo con el INSPI (2018), la vigilancia epidemiológica de

RAM es realizada por 44 entidades de salud nacionales, de las cuales el 9 de cada 10 corresponden al sector público y el resto al privado. Todos estos centros han contribuido al descubrimiento de los ocho genes generadores de resistencia que predominan en el país, con el nombre correspondiente al tipo de antibiótico al que dan resistencia: bla_{NDM} (New Delhi metallo-beta-lactamase), bla_{VIM} (Verona integron-encoded metallo-beta-lactamase), bla_{IMI} (imipenem), VAN-B (vancomicina), CFR (cloranfenicol-florfenicol), MCR-1 (colistina), CTX-M (cefotaxima, cefalosporina y betalactamasas de espectro extendido (BLEE)). Adicionalmente, un estudio realizado en hospitales de zonas rurales de Ecuador indicó que más de la mitad de los aislamientos donde se identificaron Enterobacterales, fueron resistentes a ampicilina (79,8 %), ampicilina/sulbactam (57,5 %) y amoxicilina-ácido clavulánico (62,6 %) (Palomino Castellano et al., 2024).

En el Ecuador la información sobre parámetros como los genes de resistencia, sus canales de dispersión y las estadísticas de las enfermedades que la RAM provoca, es escasa, lo que dificulta el seguimiento y la evaluación de la situación por medio del plan de vigilancia de RAM en el territorio nacional (Instituto Nacional de Salud Pública e Investigación, 2018). De esta manera, son pocas las investigaciones que se enfocan en la presencia de bacterias resistentes en otros ambientes, como granjas, criaderos de aves y cultivos agrícolas (Ortega-Paredes et al., 2020; Braykov et al., 2016; Tenea et al., 2023). Si bien existen bacterias naturalmente resistentes, el aumento de estas bacterias en espacios comunitarios podría indicar un crecimiento en la diseminación de genes de resistencia a antibióticos, contribuyendo así a este problema a nivel de salud pública (Rocha, 2015).

1.1.2. Resistencia a antibióticos y comida callejera

Desde una perspectiva *One Health*, el nivel de dispersión de bacterias multirresistentes depende en gran medida de las redes de comunicación entre los aspectos ecológico, biológico y genético de la comunidad; y la relación entre ellos ocurre por la convergencia y unión de factores en un mismo espacio. Por ello, al estudiar a estos microorganismos, es importante abarcar las condiciones ambientales en las cuales proliferan (Baquero et al., 2019). Para poder estudiar la resistencia a antibióticos de manera integral aún es necesario dilucidar varios hechos, por ejemplo: los lugares en los que los genes de RAM se diseminan y por qué medio lo hacen, qué ruta de diseminación siguen y qué implicaciones tienen estos resultados en la población (Jin et al., 2022). Estudios establecen que las rutas típicas de dispersión son por contacto corporal o transmisión de contacto indirecto, aerosoles y comida preparada por personas portadoras de patógenos resistentes (Bengtsson-Palme et al., 2018).

En ese contexto, se debe reconocer que la incidencia de enfermedades causadas por alimentos también se ha incrementado. El consumo de comida mal procesada causa 600 millones de casos de enfermedades causadas por alimentos y alrededor de 420 000 muertes al año, con la infección bacteriana como causante principal de estas patologías (Lee & Yoon, 2021). Adicionalmente, un estudio de Estados Unidos realizó un monitoreo sobre las tendencias de incidencia de enfermedades causadas por alimentos relacionándolas con los patógenos causantes de dichas infecciones. Se encontró que *Campylobacter* fue aquel género más encontrado (19,5%), seguido de *Salmonella* (18,3%) y *Escherichia coli* con toxina de Shiga (5.9%), y que en todas estas bacterias, la RAM también estaba presente (Tack et al., 2019).

Internacionalmente, la RAM en comida callejera es un tema ampliamente investigado. Un estudio de revisión sistemática sobre genes de resistencia en bacterias provenientes de alimentos de origen animal a nivel global desde 2017 a 2023, determinó que los antibióticos con más reportes de resistencia eran la tetraciclina (44 estudios), ampicilina (26 estudios) y sulfametoxazol/trimetoprima (26 estudios). Específicamente en alimentos de origen de comida animal sin cocción, se reportaron genes *bla*, de resistencia a betalactámicos en 24 estudios; de igual manera los estudios de este tipo fueron más frecuentes en Asia, África y Europa (Rodríguez-Patiño et al., 2024). Adicionalmente, una investigación realizada en India en 2021 tenía como fin analizar la resistencia antibiótica detectada en bacterias de 100 aislados de diferentes tipos de comida callejera; se observó resistencia a carbapenémicos como cefepime (72,9%), imipenem (55,9%) y meropenem (16.9%), con una prevalencia de los siguientes genes: blaTEM (40.68%), blaCTX (32.20%), blaSHV (10.17%) y blaNDM (20.34%) (Giri et al., 2021).

La resistencia a antibióticos en América Latina es monitoreada en menor medida que en el resto del mundo. Un estudio de revisión realizado por Babines-Orozco et al. (2024) para la región tenía como fin evaluar el papel de diferentes patotipos de *E. coli* y su relación con enfermedades causadas por alimentos y también estudiar los genes y mecanismos involucrados en la resistencia a antibióticos, en diferentes países de Latinoamérica. A partir de ello se encontró que la resistencia a betalactámicos es la más reportada en la región, con presencia de *E. coli* productora de betalactamasas en carne de res y lácteos y genes AmpC en carne de res y cerdo. De igual manera, se ha estudiado la prevalencia de los genes *mcr*, de resistencia a la colistina, en varios países latinoamericanos, y Brasil, Bolivia y Argentina

presentaban más reportes de ellos, y de esos tres países solo el primero tenía análisis de muestras de comida (Mendes Oliveira et al., 2019).

En Ecuador, predominan investigaciones acerca de la calidad microbiológica de los alimentos sobre la RAM en comida. Un estudio realizado por Díaz Cárdenas et al. (2024), cuyo enfoque geográfico eran las tres ciudades más extensas del país, Guayaquil, Quito y Cuenca, pretendía evaluar la calidad microbiológica de la comida callejera para una posterior identificación de la población bacteriana. Para ello, se recolectaron muestras de alimentos como bolón, carne molida, ceviche, encebollado, ensalada de frutas, queso y salsas. Los principales resultados demostraron existencia de mesófilos aerobios totales, coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli* en todas las muestras analizadas. Igualmente, se identificaron variaciones importantes entre las bacterias detectadas según el tipo de alimento y la ciudad de muestreo. Así, *E. coli* no solo se encuentra en mayor medida en la carne molida (40 – 100%) y en el queso fresco (60 – 100%) en las tres ciudades, sino que también fue detectada en salsas y encebollado. Además, *Salmonella enterica*, que estuvo presente en un 20 – 60% de muestras de salsas, no se halló en muestras de queso, bolón ni carne molida. Estos hallazgos resultan importantes ya que dichos microorganismos han sido reportados como resistentes por otros investigadores (Ortega-Paredes et al., 2020; Tubón et al., 2022; Zurita et al., 2020; Acosta España, 2021).

Además, un estudio que evaluó la calidad microbiológica de frutas listas para comer, obtenidas en un mercado municipal de la ciudad de Ibarra fue realizado por Tenea et al. en el 2023. Mediante técnicas microbiológicas, se aislaron diferentes géneros bacterianos: coliformes totales, aerobios totales, *Enterobacter* sp., *Shigella* sp., levaduras, hongos,

Staphylococcus y *E. coli*. Se determinó que, las muestras de *Staphylococcus* sp. eran resistentes a la meticilina y vancomicina en un 100 %, mientras que un 44 % y un 25 % de las muestras tenían resistencia a la gentamicina y cefuroxime respectivamente.

Por otra parte, en la ciudad de Ambato se llevó a cabo un proyecto de evaluación fenotípica y genotípica de resistencias antimicrobianas en Enterobacterales aislados de comida callejera. Las pruebas fenotípicas se realizaron mediante el cultivo y aislamiento de Enterobacterales, por medio de agares especializados, seguido de antibiogramas en agar Mueller-Hinton; los ensayos genotípicos se ejecutaron mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Los resultados, expuestos mediante árboles jerárquicos, demostraron una gran cantidad de resistencia a antibióticos por parte de las Enterobacterales y *E. coli* específicamente (Tubón et al., 2022). Dicho estudio da un indicio sobre la prevalencia de genes de resistencia en la comida callejera de esa ciudad, demostrando el papel que este tipo de alimentos desarrolla en la diseminación de bacterias resistentes.

Otro estudio realizado por Zurita et al. (2020), tenía como fin identificar la diversidad clonal de bacterias *E. coli* con betalactamasas de espectro extendido (BLEE) aisladas de comida callejera. Los resultados indicaron la presencia de bacterias multirresistentes en el 85% de muestras analizadas. Dicho estudio demostró que hay una alta presencia de bacterias *E. coli* multirresistentes en la comida callejera de la ciudad de Quito.

1.2. Planteamiento del Problema

La resistencia antimicrobiana (RAM), vista como la capacidad de las bacterias de sobrevivir y reproducirse en presencia de los antibióticos, conlleva un gran problema a escala global. Factores como el uso indiscriminado de antibióticos en humanos y en la industria

agraria aceleran su propagación, contribuyendo a un rápido aumento de muertes. En América Latina, la resistencia a antibióticos está presente, y aunque algunos países han implementado planes de vigilancia y acción, la falta de control y regulación sigue latente.

En Ecuador la investigación en este ámbito es limitada. Las investigaciones más relevantes incluyen, estudios sobre la calidad microbiológica y la presencia de bacterias enteropatógenas en diversas comidas callejeras como carnes, queso, salsas y encebollados en las ciudades de Guayaquil, Quito y Cuenca. En Ibarra, se estudió la resistencia a antibióticos de bacterias presentes en frutas y se identificaron aislados Gram positivos resistentes a meticilina y vancomicina. En Ambato, se identificaron Enterobacterales multirresistentes en comida callejera mediante análisis fenotípicos y genotípicos. Por último, en Quito, se estudiaron aislados específicamente de *E. coli* proveniente de comida callejera para la identificación de resistencia a betalactámicos. Si bien estos hallazgos resaltan la relación entre la comida callejera y la diseminación de la RAM, la investigación sobre este tema sigue siendo escasa en el país y más aún en la ciudad. En ese contexto, todavía es necesario estudiar otros espacios comunitarios y altamente concurridos que pueden representar una fuente de diseminación de la RAM, e identificar los genes de resistencia que tienen las bacterias que se encuentran en diversas comidas callejeras.

Por esto, la pregunta de investigación del estudio es: ¿Qué bacterias resistentes a antibióticos se encuentran en la comida callejera de parques y plazas del centro del DMQ, y qué genes de resistencia poseen?

1.3. Justificación

El estudio de la RAM es una rama de investigación de gran interés, no solo a nivel local, sino global. Como se mencionó previamente, la RAM es la causante de 700 000 muertes anuales, número que continúa en aumento, y que llegará a los 10 millones en 2050 aproximadamente (Rehman, 2023). La importancia de estudiar a la RAM se sustenta en el gran impacto que tiene en la salud pública, ya que los microorganismos protagonistas de la RAM transforman simples infecciones en condiciones potencialmente mortales, contribuyendo también a la diseminación de patologías más invasivas y contagiosas (Bello-Fernández et al., 2018). Una arista importante de este tema es la comida callejera, por ciertos factores críticos. En primer lugar, este tipo de comida a menudo es preparada y vendida en condiciones que no cumplen con los estándares de higiene y seguridad definidos por las autoridades competentes. Adicionalmente, la comida de las calles se encuentra expuesta, en mayor medida, a fuentes de contaminación externa como: personas con malas prácticas de higiene, métodos de preparación insalubres y ambientes con cargas microbianas elevadas; esto permite considerar a la comida callejera, en un reservorio de bacterias resistentes, las cuales se diseminan al ambiente por medio del consumo popular.

Los estudios realizados a nivel nacional, en ciudades como Ambato, Ibarra, Guayaquil y Cuenca, confirman lo mencionado anteriormente, ya que han demostrado una alta proporción de bacterias resistentes en muestras de comida callejera. A su vez, la profundización de este campo investigativo brinda información para la “reducción del riesgo de emergencia y propagación de la resistencia a los antimicrobianos en la salud humana, animal, vegetal y medioambiental en Ecuador”, el mismo que es un objetivo propuesto por el Ministerio de Salud en el año 2019 (INSPI, 2018). Por todo lo anterior, la investigación de

RAM en comida callejera sienta un precedente informativo para la elaboración de políticas públicas y estrategias de mitigación que busquen controlar la diseminación de estas bacterias a nivel sanitario.

La identificación de genes de resistencia en bacterias aisladas de comida callejera en el centro del DMQ brindará información relevante para el contexto de la RAM en Ecuador. La investigación en este ámbito no es tan prevalente en el país, sobre todo en comida callejera, ya que, como se mencionó previamente, las investigaciones realizadas localmente discuten en mayor medida la calidad microbiológica de los alimentos, y la RAM a nivel clínico. Con los pocos estudios de RAM en bacterias de alimentos de venta informal, aún existen hechos por esclarecer, entre ellos, la identificación de genes de RAM presentes en bacterias de comida callejera de espacios comunitarios y concurridos. Por ende, este trabajo de investigación permitirá conocer qué bacterias resistentes se encuentran en la comida callejera de parques del centro del DMQ y qué genes de RAM poseen.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

Identificar genes de resistencia antimicrobiana presentes en especies bacterianas obtenidas a partir de comida callejera procedente de zonas urbanas del centro del Distrito Metropolitano de Quito (DMQ), mediante análisis microbiológicos y moleculares, para la determinación de una posible fuente de propagación de bacterias multirresistentes.

1.4.2. Objetivos Específicos

1. Aislar bacterias presentes en comida callejera del centro del DMQ, mediante técnicas microbiológicas convencionales, para la determinación de microorganismos con potencial resistencia a antibióticos.
2. Caracterizar los perfiles de resistencia antimicrobiana de los aislamientos bacterianos obtenidos, mediante pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, para la selección de cepas e identificación de genes de resistencia y factores de virulencia.
3. Identificar genes de resistencia antimicrobiana y factores de virulencia en los aislamientos bacterianos seleccionados, mediante técnicas de biología molecular, secuenciación y bioinformática, para la evaluación del riesgo sanitario asociado al consumo de comida callejera en el área de estudio.

2. Metodología

Para la ejecución de este trabajo se separó su metodología en tres fases distintas: muestreo, análisis microbiológico y análisis molecular, tal y como se indica en la **Figura 2.1.**

2.1.

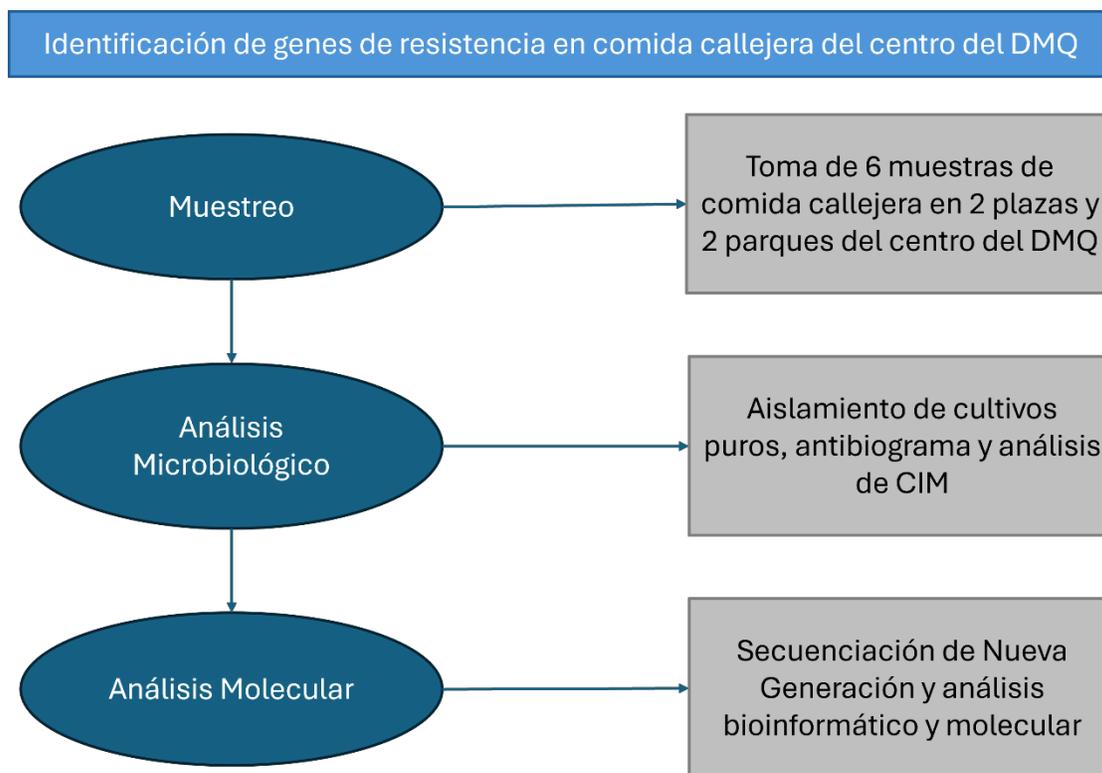


Figura 2.1: Fases metodológicas del proyecto para la detección de genes de resistencia en comida callejera del centro del DMQ

2.1. Muestreo en el centro del DMQ

2.1.1. Preparación de Medio de Transporte (Agua Peptona Tamponada)

Como medio de transporte para la recolección de muestras, se prepararon 600mL de agua peptona tamponada con un pH de $7,2 \pm 0,2$; se autoclavó a 121°C y 15 Psi por 15 minutos; posteriormente, en cabina de flujo laminar, se dispensaron 90 ml del medio en

frascos estériles y se los almacenó a 4°C hasta la fecha de muestreo (Vincenti et al., 2017; Dela et al., 2023). En un contenedor con hielo, seis frascos estériles y un termómetro para verificar que la temperatura no supere los 4°C se transportaron hasta los lugares de muestreo.

2.1.2. Delimitación de las zonas de muestreo y recolección de muestras

Se realizó un muestreo por conveniencia en las siguientes zonas del centro del DMQ: Plaza San Francisco y la Plaza de la Independencia, ubicadas en la parroquia Centro Histórico y los parques El Ejido y La Alameda, que pertenecen a la parroquia Itchimbia (Administración Zonal Manuela Saénz, 2020), lo que se observa de mejor manera en la **Figura 2.2**. Por otro lado, para el muestreo se seleccionaron cuatro tipos de alimento líquido: salsas, espumilla, ensalada de frutas y cevichochos (Arguello-Hernández et al., 2023; Tubón et al., 2022). Al momento de la recolección de las muestras se registró la hora y la ubicación georreferenciada de cada punto por medio de la aplicación "UTM Geo Map" (Geodesy Engineers, 2025). Para identificar cada muestra le asignó un código informativo con los siguientes datos: sector de muestreo, las tres primeras letras del lugar de recolección, las tres primeras letras del tipo de comida, la inicial del estado de la muestra (líquido o sólido) y el número de muestra. La matriz de recolección de datos se evidencia en la **Tabla 2.1**.

Tabla 2.1: Matriz de muestreo con especificaciones de las muestras de comida callejera tomadas en el centro del DMQ.

Localidad de Recolección	Tipo de Muestra	Estado	Puntos de Georreferencia	Código de Muestra
Plaza de la Independencia	Espumilla	Líquido	-78.5121306; -0.2195845	QC-PLA- ESP-L-001

Localidad de Recolección	Tipo de Muestra	Estado	Puntos de Georreferencia	Código de Muestra
Plaza San Francisco	Ají	Líquido	-78.5146068; -0.2222209	QC-PLA-AJÍ-L-002
Plaza San Francisco	Cevichocho	Líquido	-78.51467128; -0.22232684	QC-PLA-CEV-L-003
Parque La Alameda	Ají	Líquido	-78.5013629; -0.2137421	QC-ALA-AJÍ-L-004
Parque El Ejido	Cevichocho	Líquido	-78.4978819; -0.2079056	QC-EJI-CEV-L-005
Parque El Ejido	Ensalada de frutas	Líquido	-78.4973582; -0.2084293	QC-EJI-JUG-L-006

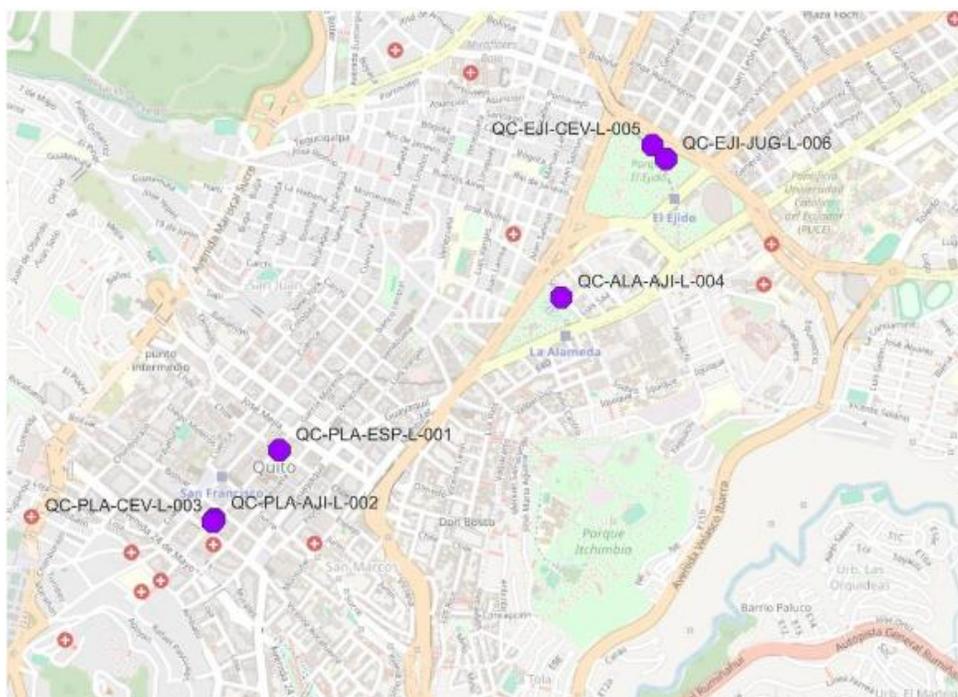


Figura 2.2: Mapa de Quito con la ubicación geográfica de los puntos de muestreo de alimentos

2.2. Fase de análisis microbiológico

Además de la caracterización de colonias, la fase de análisis microbiológico tuvo como objetivo filtrar todas las bacterias iniciales, con el fin de seleccionar solamente las muestras que exhiben resistencia y por ende, son de interés para el proyecto; esto se realizó en tres fases que se resumen en la **Figura 2.3**.

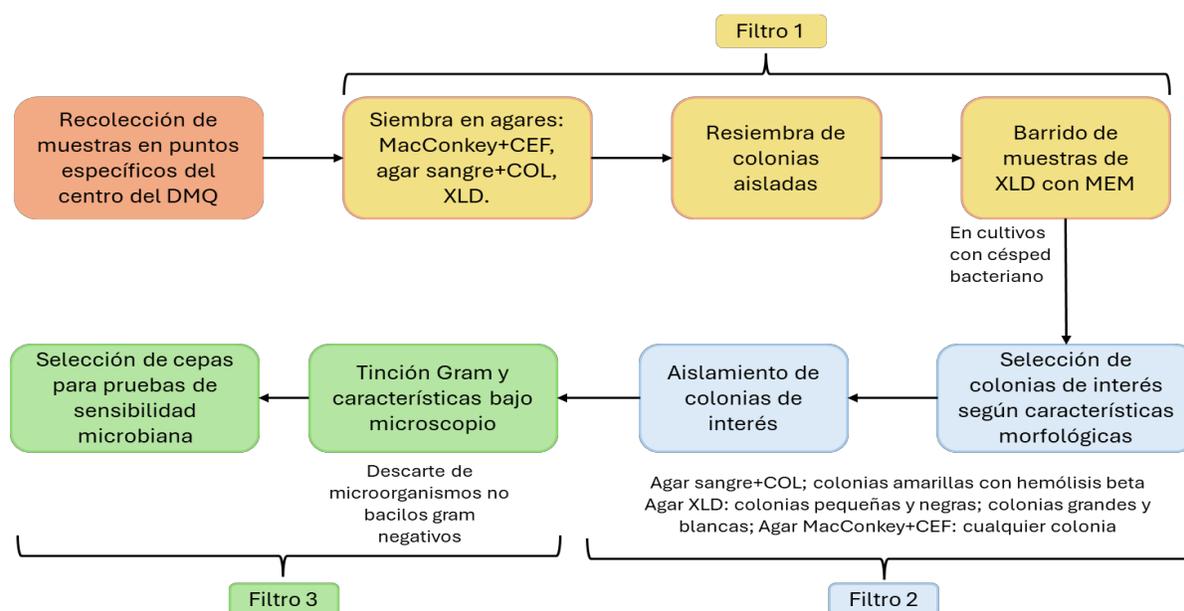


Figura 2.3: Flujo de procesamiento de las muestras obtenidas

2.2.1. Preparación de medios de cultivo selectivos

2.2.1.1. Agar XLD

Para el aislamiento de Enterobacterales, provenientes de muestras de comida se prepararon 140 ml de Agar XLD (Chauan & Jindal, 2020; Wahab et al., 2016). Se ebullió agua destilada para adicionar el agar y disolverlo. Después se ajustó el pH a 7,4 y el medio fue dispensado en 14 cajas Petri de 90mm x16mm en cabina de flujo laminar. Se realizó el control positivo con una cepa de *E. coli* previamente aislada.

2.2.1.2. Agar MacConkey enriquecido con Cefepime

Para el aislamiento de Enterobacteriales resistentes se prepararon 140 ml de Agar MacConkey enriquecido con cefepime (CEF) (0,1mg/ml) (Vinocur et al., 2021; McEwen et al., 2016). Al disolver el agar y ajustar el pH a 7,1, el medio fue autoclavado a 121°C y 15 Psi por 15 minutos. Se agregó el antibiótico y, se dispensó el medio en 14 cajas Petri de 9mm x16mm en cabina de flujo laminar.

2.2.1.3. Agar Sangre enriquecido con colistina

Para el cultivo de bacterias Gram negativas resistentes se prepararon 140ml de Agar Sangre enriquecido con colistina (COL) (0,05mg/ml) (Vinocur et al., 2021; Mondal et al., 2024). Se disolvió el agar, se ajustó el pH a 7,3 para autoclavarlo a 121°C y 15 Psi por 15 minutos. En cabina de flujo laminar, una vez que el medio llegó a 45 – 50°C se agregó la sangre y la colistina. El medio se dispensó en 14 cajas Petri de 9mm x16mm.

2.2.2. Inoculación y Cultivo de Muestras en medios selectivos

Las muestras fueron inoculadas los agares previamente preparados: Sangre + COL, MacConkey + CEF y XLD, por duplicado. Esto se realizó por medio de la técnica de extensión con asa Digrafsky. Se incubó a 37°C por 72 horas (Varón et al., 2023).

2.2.3. Aislamiento de colonias bacterianas Gram negativas y resistentes a antibióticos

Una vez transcurrido el período requerido de incubación, las bacterias resultantes fueron inoculadas en medios de cultivo selectivos: agar sangre y agar MacConkey sin enriquecimiento antibiótico; esto se hizo para obtener colonias aisladas provenientes de los cultivos iniciales. Para las bacterias aisladas en agar sangre, se realizó una tinción Gram para

poder clasificar a los microorganismos como Gram positivos o Gram negativos y así, determinar su resistencia a la colistina (Hossein et al., 2024).

2.2.4. Barrido de agar XLD y cultivo con meropenem (MEM)

Para aquellas muestras cuyo cultivo inicial en XLD tenía un césped bacteriano, se procedió a hacer una prueba de sensibilidad con un disco de MEM de 10 ug, para obtener colonias resistentes y aislarlas para continuar con el análisis (Banik et al., 2018). Esto se realizó mediante una técnica de barrido de toda la caja de Petri que posteriormente fue inoculada con un disco antibiótico, para aislar bacterias resistentes.

2.2.5. Dilución y conteo de colonias

Las muestras que no presentaron resistencia se utilizaron para el conteo de colonias y la determinación de la concentración bacteriana en cada muestra de comida como parámetro de calidad microbiológica (Chauhan y Jansen, 2020). Para ello, se realizaron diluciones de 1:100, 1:1000 y 1:10,000 en agua peptona para las muestras con colonias incontables en el cultivo inicial. Posteriormente, se inoculó en agar sangre y agar MacConkey para enriquecer el medio de cultivo y así, preservar las bacterias (Caycedo et al., 2021).

2.2.6. Selección de colonias según características en tinción Gram

Esta técnica se realizó para obtener un grupo preliminar de bacterias de interés cuyos ensayos posteriores son de relevancia para la detección de colonias resistentes (Rivera, 2021; Udomessien et al., 2022).

2.3. Pruebas de sensibilidad

2.3.1. Antibiograma

Para detectar los antibióticos a los que las bacterias de colonias aisladas son resistentes, se procedió a hacer antibiogramas con los siguientes discos: Amoxicilina - Ácido clavulánico (AMC), Cefepime (CEF), Imipenem (IPM), Meropenem (MEM), Cefoxitina (FOX) (CLSI, 2024; Harada et al., 2018). Esto se hizo en agar Mueller Hinton, en cajas de 90mm, con un volumen que cumple con los 4mm de grosor en cada caja, tal y como lo establece el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, 2024).

2.3.2. Prueba de Concentración Mínima Inhibitoria

La prueba de concentración mínima inhibitoria (CMI) para Colistina consistió en inocular colonias de las cepas previamente aisladas, por medio de la técnica de dilución en placas en agar Mueller Hinton con diferentes concentraciones de colistina. De acuerdo con el CLSI (2024), la prueba de CMI se debe realizar con dos concentraciones de antibióticos por encima y por debajo de la concentración de punto de corte. En este caso, la prueba se hizo inoculando 10ul de cultivo bacteriano en agar enriquecido con: 0,5; 1; 2; 4; 6 y 8ul de Colistina en cajas Petri de 150 mm divididas en cuatro partes.

2.4. Fase de análisis molecular

Después de la fase de análisis microbiológico, se procedió a realizar la fase de análisis molecular, conformada por la extracción de material genético bacteriano y la secuenciación de genoma completo.

2.4.1. Extracción de ADN

La extracción del material genético bacteriano se realizó utilizando el kit "QIAamp DNA Mini Kit (50)" de Qiagen, optimizado para ADN bacteriano y eficiente en la obtención de material de alta calidad (Ibrahim y Ali, 2019). Se realizó una electroforesis de agarosa al 2% para verificar la cantidad e integridad del material genético extraído. Posteriormente, la concentración de ADN se cuantificó en ng/uL mediante fluorimetría con el equipo Qubit 2.0 (Chiluisa y Echeverría, 2017).

2.4.2. Secuenciación NGS y análisis bioinformático

La secuenciación de nueva generación fue realizada por la empresa Biosequence, con el equipo MiSeq por medio de la tecnología de secuenciación por síntesis de Illumina, realizada a una profundidad de 30X. A partir de ello fue posible estudiar el genoma completo de todas las bacterias, los cuales posteriormente fueron analizados mediante herramientas bioinformáticas por medio de la plataforma Galaxy Australia (Furutani et al., 2022; Mesfin et al., 2022). En primer lugar, se realizó un trimado con el programa Trimmomatic, para asegurar una buena calidad de material genético para el análisis, con una calidad promedio (PHRED score) de 30. A continuación, usó la herramienta FASTQC para el estudio de calidad, verificando que ninguna muestra tenga lecturas con un PHRED score por debajo del límite antes establecido (Kim et al., 2018). Posteriormente, se hizo un ensamblaje *de novo* con la herramienta SPADES con unos tamaños de k-mers automáticos de: 21,33,55,77; y su correspondiente análisis de calidad con el programa QUAST (Prjibelski et al., 2020; More y More, 2020). Para identificar la especie bacteriana, se utilizó la página Pub MLST. Posteriormente, se hizo anotación de genomas con la herramienta PROKKA, para identificar

genes de resistencia, factores de virulencia y presencia o ausencia de plásmidos (Madaha et al., 2020).

3. Resultados y Discusión

3.1. Aislamiento de bacterias por medio de técnicas microbiológicas

El aislamiento de colonias bacterianas axénicas es el primer pilar para el cumplimiento de los objetivos planteados. Por medio de técnicas microbiológicas convencionales, se realizó el cultivo inicial, identificación microbiológica y posterior aislamiento de bacterias con posibles resistencias a antibióticos; a continuación, se detallan los resultados obtenidos. Las seis muestras de comida callejera recolectadas fueron inoculadas por duplicado en tres agares diferentes: agar sangre+COL, agar XLD y agar MacConkey+CEF. En el primer y segundo agar se evidenció crecimiento en el 100% de las muestras y en el tercero, solo hubo crecimiento en el 50%. Esto indica que 3 / 6 muestras tuvieron crecimiento de microorganismos Enterobacteriales con posible resistencia a cefepime, y el 100% tuvo Enterobacteriales y posible resistencia a la colistina. Esto se resume en la **Tabla 3.1**.

Tabla 3.1: Cantidad de muestras que evidenciaron crecimiento bacteriano en cada agar selectivo

Agar	Total	Porcentaje
Agar sangre + COL	6 / 6	100
Agar XLD	6 / 6	100
Agar MacConkey + CEF	3 / 6	50

Para este proyecto, los agares selectivos fueron útiles para el cultivo de bacterias Gram negativas, que son de mayor relevancia debido a que, por su membrana, son más difíciles de penetrar y suelen tener mayores resistencias intrínsecas (Huemer et al., 2020). Concretamente, el aislamiento de Enterobacterales fue posible en todas las muestras, y su estudio en el contexto de la RAM es de mayor relevancia debido a que en los últimos años, estos microorganismos han sido reportados como resistentes a antibióticos de último recurso, como los carbapenémicos (Díaz-Gavidia et al., 2021). La presencia de Enterobacterales en el 100% de las muestras concuerda con lo que establecen Campos et al. (2015), quienes realizaron un estudio de identificación de genes de resistencia en comida callejera de la ciudad de Porto, Portugal y detectaron Enterobacterales y coliformes en el 100% de sus muestras de comida callejera (29 muestras distribuidas en: carne de hot dog y hamburguesas, manos del vendedor). Adicionalmente, un estudio realizado en la ciudad de Ambato detectó Enterobacterales en el 86,1% de sus muestras (Tubón et al., 2022).

Por otra parte, al realizar el conteo de las diluciones para reportar unidades formadoras de colonias (UFC), se observó un crecimiento bacteriano excesivo en las placas, superando el rango óptimo para un conteo preciso. Este crecimiento desmedido puede atribuirse a un tiempo de incubación prolongado y como consecuencia, los resultados obtenidos no son considerados confiables para una cuantificación precisa de las UFC. Por ello, los datos de la **Tabla 3.1** brindan solamente un contexto de la presencia de bacterias en la comida, y no son referentes para analizar su calidad microbiológica, situación similar a lo descrito por Zurita y Zurita (2019), quienes, en su estudio de comida callejera en diferentes zonas de Quito, detallan que los datos recolectados no son útiles para determinar la calidad microbiológica de los alimentos muestreados.

Es importante recalcar que la gran mayoría de los aislados provenían de muestras líquidas cuyo origen era comida sin cocción. La comida sin cocción tiene una mayor probabilidad de contener bacterias patógenas en comparación con la comida cocinada debido a la falta de tratamiento térmico que elimina los microorganismos termosensibles; esto se debe a que el proceso de cocción a temperaturas elevadas mata estas bacterias, reduciendo significativamente el riesgo de enfermedades transmitidas por los alimentos (Koch et al., 2020). Un estudio realizado en Mozambique (Salamandane et al., 2020) afirma que la presencia de bacterias en comida cruda es mayor en comparación a la comida cocida. De igual manera, León et al (2023), plantearon un estudio de comida vendida de manera ambulatoria (417 muestras) en Cuenca para su análisis microbiológico, comprobaron la diferencia entre comida cocinada y cruda, detectando que el nivel de insatisfacción por presencia de bacterias patógenas en comida sin tratamiento térmico era del 54%, mientras que, de la comida cocida, el porcentaje de insatisfacción sólo llegaba al 24%.

A partir de los resultados obtenidos y discutidos en esta sección es importante explorar las razones por las que estos microorganismos se encuentran en la comida. Para ello, existen al menos tres factores que deben ser considerados. Según Siddabathuni (2019), la presencia de microorganismos en los alimentos puede deberse a diferentes factores, como el ambiente en el que se da la venta de comida, el nivel de limpieza de los utensilios y el propio microbiota de quien lo prepara. En este contexto, encontrar Enterobacterales en las muestras de comida podría ser un indicio de una mala manipulación del producto alimenticio y una falta de higiene, o una contaminación de la comida por elementos ambientales (Ibrahim y Ali, 2019).

Por otro lado, de los microorganismos obtenidos en el cultivo inicial, se identificaron colonias fenotípicamente variadas, cuya distinción es importante para la obtención de cepas puras para sus posteriores pruebas de sensibilidad antimicrobiana. A continuación, se describe la diversidad de colonias de las muestras. Tal y como se resume en la **Tabla 3.2**, de cada muestra se aisló más de una colonia; específicamente de la muestra QC-EJI-CEV-L-005 se obtuvieron ocho colonias diferentes, cuatro en agar sangre + COL, dos en XLD y dos en agar MacConkey + CEF haciéndola la muestra más diversa, mientras que la muestra QC-PLA-ESP-L-001 presentó menos colonias diferentes.

Tabla 3.2: Cantidad de colonias fenotípicamente diferentes obtenidas de muestras de comida callejera de parques y plazas del centro del DMQ

Muestra	Colonias aisladas		
	Agar Sangre + COL	Agar XLD	Agar MacConkey + CEF
QC-PLA-ESP-L-001 ¹	1	1	0
QC-PLA-AJÍ-L-002	2	2	1
QC-PLA-CEV-L-003	2	0	1
QC-ALA-AJÍ-L-004	2	2	1
QC-EJI-CEV-L-005	4	2 ²	2
QC-EJI-JUG-L-006	3	2	0
TOTAL	14	9	5

¹En adelante para la identificación de cada colonia de cada muestra se agrega a su etiqueta una letra en orden alfabético, por ejemplo, para las dos colonias de agar sangre de QC-PLA-AJÍ-L-002 sus respectivas etiquetas son: QC-PLA-AJÍ-L-002 -A y QC-PLA-AJÍ-L-002-B. ²Una de las colonias de la muestra QC-EJI-CEV-L-005 resultó resistente a MEM.

La variedad de colonias está relacionada con varios factores referentes a la muestra, como su estado, sus ingredientes y su método de preparación; incluso dicha variedad se

relaciona con la microbiota que cada alimento contiene. Un estudio realizado por Jarvis et al. (2018), que tenía como fin estudiar los microbiomas de los alimentos de venta listos para comer, afirma que la humedad juega un papel importante en la presencia o ausencia de bacterias en una muestra de alimentos, ya que favorece el crecimiento de ciertos microorganismos asociados a la descomposición y al deterioro alimentario. Asimismo, cada ingrediente es más propenso a albergar ciertos tipos de bacterias que otros, por ejemplo, el cilantro, componente clave del cevichocho tradicional como el de la muestra QC-EJI-CEV-L-005, tiene en promedio, una variedad de seis filos bacterianos (*Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Flavobacterium* y *Pseudomonas*). Estos factores podrían explicar por qué existe una diferencia entre el número de colonias bacterianas de una muestra y otra, y la relación que existe con el origen del alimento procesado.

Si bien el crecimiento de colonias de microorganismos en los agares selectivos indica que se trata de bacterias de interés, es importante obtener más información sobre dichas bacterias. Consecuentemente, se realizó la tinción Gram con el fin de: confirmar que las colonias crecidas en agar sangre eran resistentes a la colistina, descartar microorganismos no bacterianos e identificar si se trataba de bacilos o cocos. A continuación, la **Figura 3.1**, resume la cantidad de colonias diferentes que fueron identificadas, e indica que 6 de las 28 siembras en total, no tuvieron un crecimiento, 9 siembras, correspondientes a colonias en agar sangre, no exhibieron evidencias morfológicas de interés y las 13 colonias restantes se distribuyeron en cuatro grupos según lo observado bajo el microscopio: bacilos Gram negativos (5), cocos Gram negativos (2), cocos Gram positivos (2) y levaduras (4). Las colonias Gram positivas cuya identidad se sospechaba ser *S. aureus* fueron descartadas después de dar negativo para coagulasa y manitol salado.

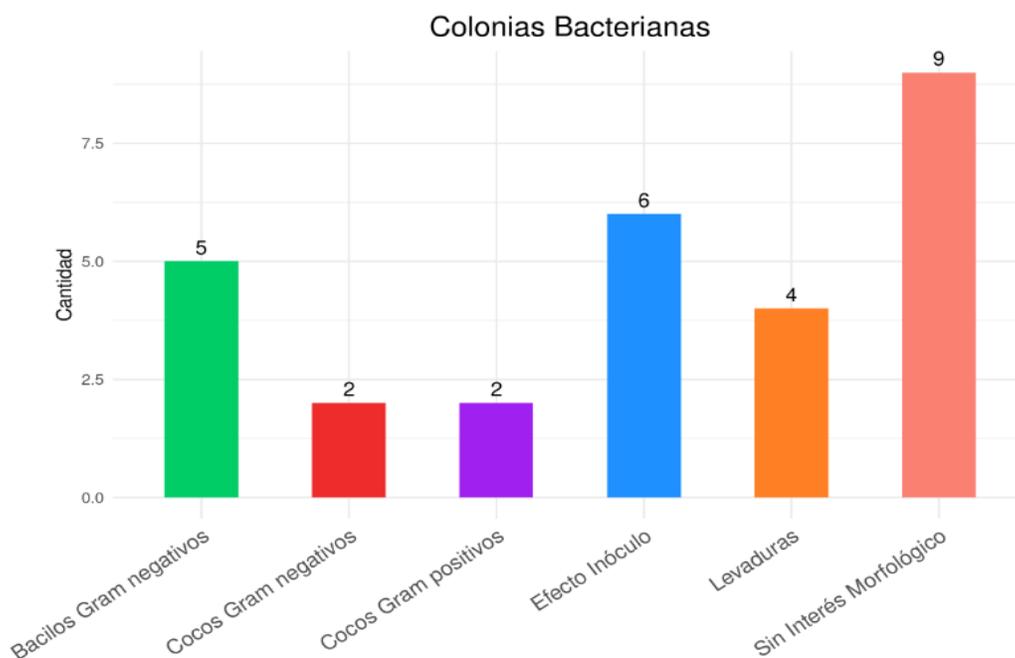


Figura 3.1: Selección de cepas según características morfológicas y tinción Gram

Aquellas siembras que no presentaron crecimiento (6 colonias), se las determinó como efecto inóculo, característica que, según Culqui Molina & San Lucas Coque (2024), es común en las bacterias Gram negativas y antibióticos betalactámicos. Por otro lado, el criterio de selección de las colonias de interés se sustenta en los estudios que explican que los Enterobacteriales y *S. aureus* son de mayor relevancia para el estudio de RAM por su predisposición a presentar resistencia y su pertenencia al grupo ESKAPE (Lynch et al., 2021; Chávez-Jacobo, 2020), por lo que se hizo énfasis en las colonias blancas pequeñas con hemólisis gamma y crecimiento en agar MacConkey. Además, la presencia de levaduras en estas muestras no resulta un caso aislado, ya que también ha sido reportada en otras investigaciones. Por ejemplo, en el estudio de León et al. (2023), que analizaba la calidad microbiológica de los alimentos vendidos en las calles de Cuenca, reportó presencia de levaduras en alimentos crudos como mayonesa (75% de las muestras), jugo de naranja

(65,4% de las muestras) y salsa de ají (50% de las muestras). Adicionalmente, Tenea et al. (2023), quienes planteaban evaluar la calidad microbiológica de frutas y jugos vendidos en las calles de Ibarra, y analizar los perfiles de resistencia de los aislados identificados, también reportaron levaduras en el 100% de sus muestras.

Las pruebas microbiológicas permitieron seleccionar y aislar bacterias que sean de interés para la investigación. Por eso, de las 28 posibles muestras a procesar, se seleccionaron seis para el análisis de resistencia y sensibilidad antimicrobiana (QC-ESP-L-1-A, QC-CEV-L-5-C, QC-CEV-L-5-D1, QC-CEV-L-5-A, QC-JUG-L-6-A y QC-JUG-L-6-B).

3.2. Caracterización de perfiles de resistencia a antimicrobianos

Una vez aisladas las colonias bacterianas de interés, por medio de técnicas microbiológicas, siguen las pruebas de sensibilidad antimicrobiana, y la consecuente caracterización de perfiles de resistencia. En esta sección, se discuten los resultados de los antibiogramas a betalactámicos y carbapenémicos y de la prueba de concentración inhibitoria de colistina. En primer lugar, en la **Tabla 3.3** se evidencia el porcentaje de muestras resistentes a IMP, MEM, AMC, FOX y FEP. Cabe destacar que el 100% de las muestras fueron resistentes a AMC, 50% a FOX y 16,67% a FEP; en este caso no se reportó resistencia fenotípica a ninguno de los carbapenémicos testeados. Adicionalmente, en el mapa de calor mostrado en la **Figura 3.3**, se observa en color azul aquellas muestras que presentaron un mayor halo de inhibición (mm) y en color rojo aquellas muestras que fueron resistentes a los antibióticos evaluados. La resistencia a los carbapenémicos testeados fue nula.

Tabla 3.3: Resultados de antibiogramas considerando el halo de inhibición detectado y el punto de corte para cada muestra

Muestra	IMP		MEM		AMC		FOX		FEP	
	Halo	R o S	Halo	R o S	Halo	R o S	Halo	R o S	Halo	R o S
QC-ESP-L-1-A	30	S	28	S	6	R	20	S	25	S
QC-CEV-L-5-C	30	S	30	S	6	R	6	R	17	R
QC-CEV-L-5-D ¹	25	S	30	S	6	R	12	R	28	S
QC-CEV-L-5-A	33	S	35	S	10	R	26	S	37	S
QC-JUG-L-6-A	28	S	31	S	6	R	13	R	26	S
QC-JUG-L-6-B	35	S	35	S	6	R	25	S	35	S
% Resistencia	0%		0%		100%		50%		16,67%	

¹ la muestra QC-CEV-L-5-D corresponde a la única que dio resistencia a MEM en el barrido de XLD;

Resistente (R) o Sensible (S); HALOS DE INHIBICIÓN: IMP (S > 25mm, R < 18mm), MEM (S > 25mm, R < 18mm), AMC (S > 18mm, R < 13mm), FOX (S > 18mm, R < 14mm), FEP (S > 18mm, R < 14mm).

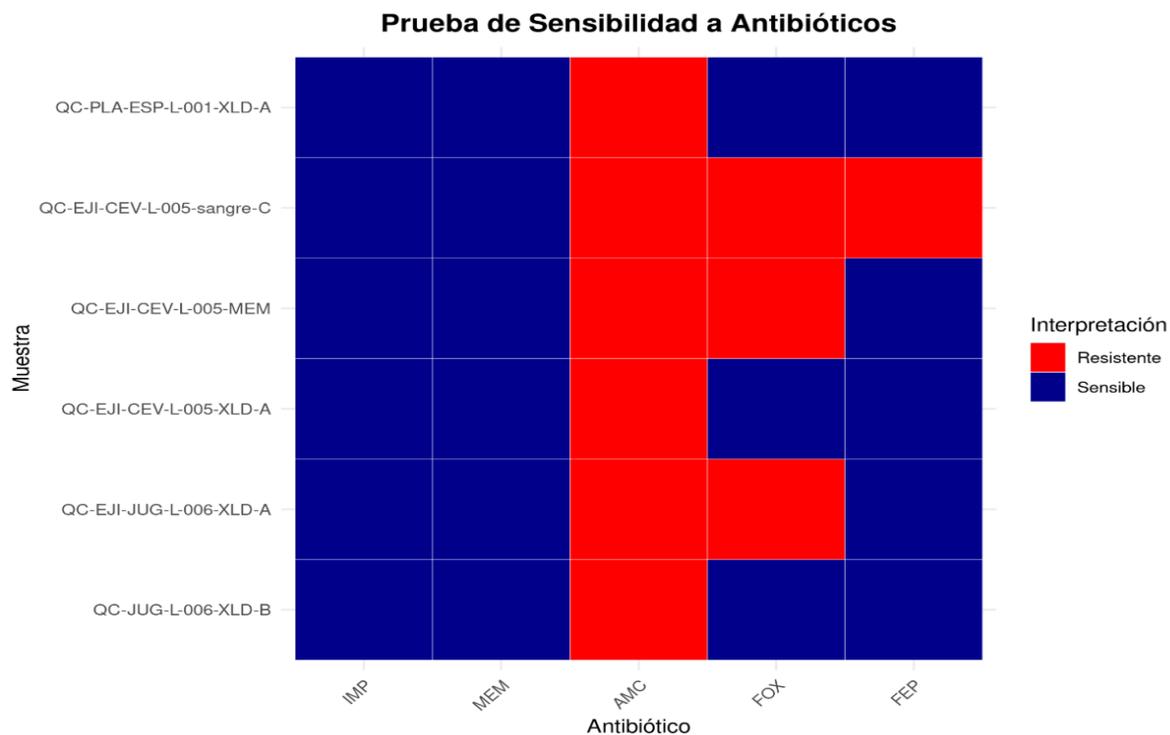


Figura 3.2: Resultados de antibiogramas por su punto de corte por cada muestra; rojo, resistente; azul, sensible

La resistencia a AMC es ampliamente descrita en Enterobacterales, tal como lo muestran los resultados obtenidos por Naftali y Mwambete (2023), quienes encontraron 100% de resistencia en sus propias muestras de ensaladas callejeras listas para comer en Tailandia. Asimismo, la resistencia a las cefalosporinas de cuarta generación también se ha evidenciado en otros estudios, como en el de Giri et al. (2021), cuyo estudio se basaba en evaluar el riesgo de la presencia de Enterobacterales productores de betalactamasas en comida callejera consumida en India, y encontraron resistencia a FEP en el 72,9% de sus muestras. En ese caso se reportaron carbapenemasas también, a diferencia de este estudio.

Es importante mencionar que la muestra QC-CEV-L-5-D dio positivo para crecimiento bacteriano en un caldo con un disco de MEM, sin embargo, a partir de estos resultados de sensibilidad antimicrobiana, se observa que el aislado fue sensible a este antibiótico. De acuerdo con Nicoloff et al. (2019), esto puede deberse a una heterotolerancia, que se da cuando una subpoblación de microorganismos resulta resistente a un antibiótico al que el resto de la población es sensible. De esta manera, la heterotolerancia, que contribuye a la heterorresistencia, refleja la diversidad fenotípica que puede tener un cultivo bacteriano axénico, demostrando que no todas las bacterias que tienen el mismo origen clonal tienen la misma tasa de mortalidad (Huemer et al., 2020).

Las pruebas de sensibilidad realizadas denotan una frecuencia de resistencia a AMC elevada (100%), una resistencia variable a cefalosporinas (50% y 17% para cefalosporinas de segunda y cuarta generación respectivamente), y nada de resistencia a carbapenémicos. Se podría inferir que dos de las seis muestras analizadas presentan una resistencia BLEE de tipo C, debido a que tienen resistencia característica a las cefalosporinas de segunda generación, como lo es el ceftioxitin y a los betalactámicos con inhibidores de betalactamasas,

como lo es la amoxicilina con ácido clavulánico (Meini et al., 2018). De igual manera, solo una muestra tuvo resistencia a la cefalosporina de cuarta generación, el cefepime, lo que podría deberse al mecanismo ya mencionado, o indicar algún mecanismo diferente, como porinas alteradas, bombas de eflujo o modificación de las proteínas de unión a penicilina (PBPs). Cabe recalcar que esta clasificación corresponde a lo establecido por Richard Ambler, cuyo planteamiento divide las beta-lactamasas en cuatro clases principales (A, B, C y D), según su estructura y mecanismo de acción. Las beta-lactamasas de clase A, C y D utilizan un mecanismo de hidrólisis dependiente de serina en su sitio activo, mientras que las de tipo B o metalo-beta-lactamasas se destacan por la presencia de iones de zinc en su estructura (Martínez y Porras, 2021).

Los resultados de sensibilidad concuerdan con lo reportado por Harada et al. (2018), quienes estudiaban la resistencia encontrada en bacterias presentes vegetales listos para comer, en Japón; detectaron resistencia AmpC en sus aislados: *E. coli*, *K. oxytoca*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *S. marcescens*, *C. freundii*. Es importante mencionar que la resistencia a antimicrobianos de este tipo se caracteriza por ser, en su mayoría, cromosómica, lo que implica una ausencia de genes resistentes a estos antibióticos en plásmidos. Además, las bacterias productoras de AmpC pueden exhibir otros mecanismos de resistencia, como la alteración de las proteínas de unión a penicilinas (PBPs) y la sobreexpresión de bombas de flujo, que expulsan activamente los antibióticos fuera de la célula (Tamma et al., 2019).

Análisis de resistencia a Colistina por concentración mínima inhibitoria (CMI)

Por otro lado, el antibiótico Colistina también es de gran relevancia en el contexto de la resistencia a antimicrobianos, sobre todo por su uso en la industria ganadera como un

profiláctico para los animales porcinos y vacunos (Sánchez-Hidalgo, 2016). La **Tabla 3.4** muestra que el 100% de las muestras tuvieron crecimiento en la concentración de su punto de corte (4 ug/mL) al igual que los 6ug/mL, mientras que solo el 66% resultó resistente a la máxima concentración analizada (8ug/mL).

Tabla 3.4: Resultados de CMI de colistina por aislado

Muestra	Concentraciones de colistina en agar sangre (ug/mL)					
	0,5	1	2	4	6	8
QC-EJI-CEV-L-005-C	si	si	si	si	si	no
QC-EJI-CEV-L-005-D	si	si	si	si	si	si
QC-EJI-JUG-L-006-A	si	si	si	si	si	si

Otros estudios exhiben resultados cercanos, por ejemplo, Johura et al. (2020), encontraron resistencia a este antibiótico en todas las bacterias aisladas provenientes de comida, agua y jabón de manos y adicionalmente, demostraron que dichas bacterias con el gen de resistencia a colistina, *mcr-1*, presentaron resistencia a otros antibióticos, dando como resultado bacterias multirresistentes. Adicionalmente, según Melgarejo (2022), la falta de sensibilidad a este antibiótico suele ser cromosómica en algunas bacterias, entre ellas: *Serratia marcescens*, *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Morganella morganii*, *Vibrio cholerae*, *Brucella* sp., *Campylobacter* sp., *Legionella* sp., *Chromobacterium* sp., *Neisseria* spp., *Edwardsiella* spp, lo que concuerda con los resultados de identidad de especie obtenidos, que serán discutidos más adelante.

Estas pruebas de sensibilidad dieron paso a la detección de microorganismos fenotípicamente resistentes a los antibióticos de relevancia mencionados previamente, colistina y betalactámicos. Consecuentemente, el análisis anterior fue la base para la selección de las tres cepas resistentes para secuenciar y estudiar sus genes de resistencia a antibióticos y sus factores de virulencia.

3.3. Genes de resistencia antimicrobiana y factores de virulencia

Las bacterias Gram negativas cuentan con un amplio catálogo de mecanismos de resistencia a antibióticos. Empezando por las bombas de eflujo, que son proteínas transmembrana que expulsan los antibióticos hacia fuera de la célula bacteriana, reduciendo su concentración interna y, por lo tanto, su efectividad (S. Wang et al., 2018). También se encuentra la producción de enzimas, como las betalactamasas, que destruyen el anillo betalactámico, afectando su estructura, y por ende al antibiótico de penicilina como tal (Yaici et al., 2017). Otro mecanismo es la modificación del sitio diana, en el cual el microorganismo altera, ya sea a nivel nucleico o proteico, el sitio al que se unen los antimicrobianos. Finalmente, un mecanismo particularmente importante en la resistencia a antibióticos como las quinolonas y las cefalosporinas es la reducción de la permeabilidad de la membrana externa, que impide el ingreso de antibióticos en la célula bacteriana, afectando su función de semipermeabilidad (Vergalli et al., 2020). Estos mecanismos pueden ocurrir de forma individual o en conjunto, permitiendo que las bacterias Gram negativas sobrevivan en entornos hostiles (Chávez-Jacobo, 2020).

En esta sección se discuten los resultados bioinformáticos, que indicaron una gran cantidad de genes de resistencia antimicrobiana y de virulencia. Si bien los genes de un

organismo nunca pueden funcionar de manera aislada, debido a que un gen puede estar involucrado en más de una función o proceso, es importante distinguir entre genes de virulencia y resistencia, ya que tienen funciones específicas (Ponce de León Rosales et al., 2015). En este estudio se identificaron 150 genes de RAM diferentes, entre ellos se puede apreciar resistencia a macrólidos, tetraciclinas, quinolonas, aminoglucósidos y a antibióticos de mayor relevancia clínica como betalactámicos, polimixinas y múltiples antibióticos, al igual que más de 300 genes de virulencia por medio de diferentes mecanismos como: sistemas de secreción, invasión, adhesión, toxinas, sideróforos y mecanismos de evasión del sistema inmune.

3.3.1. Genes de resistencia a diversos antibióticos

A continuación, se discuten los genes que dan resistencia a diversos antibióticos, lo que se aprecia en la **Figura 3.2**. Entre ellos, hay genes de resistencia a tetraciclinas, macrólidos, aminoglucósidos, quinolonas, trimetoprim, cloranfenicol y demás.

Genes de resistencia a Antibióticos

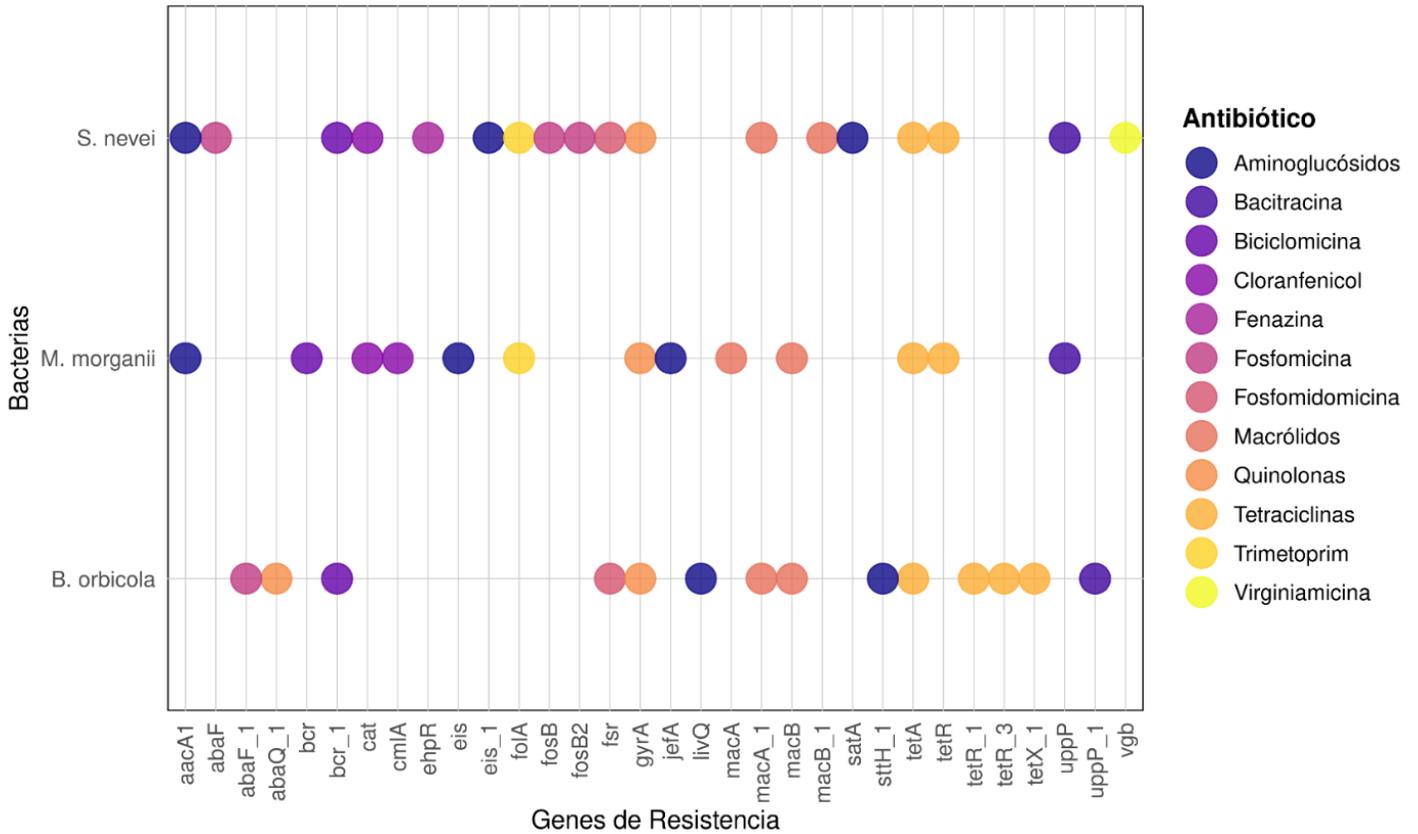


Figura 3.2: Genes de resistencia a antibióticos por aislado bacteriano

Para aminoglucósidos, hay genes de resistencia como *eis*, *livQ*, *satA*, *sttH_1* y *aacA1*, que codifican hidrolasas y acetiltransferasas que modifican la estructura de los aminoglucósidos, confiriendo resistencia a dicho antibiótico (Burckhardt & Escalante-Semerena, 2017; Alazmi & Motwalli, 2024); esto se da gracias a genes como el *aacA1*, que también ha sido reportado en Gram negativas, y esto coincide con dos de los tres aislados analizados (Reeves et al., 2020). Además, en los tres aislados se ha encontrado el gen *bcr* (y *bcr_1*), que confieren resistencia a la biciclovina; a pesar de que este antibiótico ha sido identificado como eficiente contra infecciones por bacterias Gram negativas resistentes a carbapenémicos (W. Wang et al., 2023), también se ha reportado su resistencia intrínseca en

especies bacterianas como *Serratia marscesens* y *Pseudomona aeruginosa* (McCarlie et al., 2023). De igual manera, la resistencia a quinolonas ha sido detectada en los tres ejemplares por medio del gen *gyrA*, y en *B. orbicola*, la misma resistencia también ha sido atribuida al gen *abaQ_1* (Sandner-Miranda et al., 2018; Pérez-Varela et al., 2018).

Adicionalmente, en los tres aislados se encontró resistencia a la tetraciclina por medio de genes como *tetA*, *tetR*, *tetR_1*, *tetR_3* y *tetX_1*. De acuerdo con Jahantigh et al. (2020), el gen *tetA* es el más reportado en bacterias Gram negativas y está relacionado con bombas de eflujo de los antibióticos, mientras que el gen *tetR* actúa como un regulador transcripcional involucrado en la resistencia de dicho antibiótico; estos genes a su vez están estrechamente relacionados con el transposón *Tn10* (Bertram et al., 2022). Por otra parte, la resistencia a macrólidos se evidencia por bomba de eflujo tripartita macAB-TolC, tipo ABC (Souabni et al., 2021), que se compone de los elementos macA, macB y TolC. Aunque es un complejo de eflujo común, no hay muchos reportes para *Morganella* ni *Burkholderia*; sin embargo, Shirshikova et al. (2021), ha reportado que en *Serratia*, este complejo, además de dar resistencia a los macrólidos, contribuye a la resistencia a polimixinas y aminoglucósidos.

3.3.2. Genes de resistencia a Polimixinas, Betalactámicos y múltiples antibióticos

Como se ha mencionado previamente, los antibióticos que son de mayor interés investigativo son la colistina, betalactámicos y carbapenémicos, y por lo que el análisis de los genes de resistencia a estos antibióticos se lo realiza en conjunto, y junto con ellos, los genes de resistencia a múltiples antibióticos. En la **Tabla 3.5** se observa la cantidad de genes de resistencia que tiene cada especie, según su conjunto, especificando los antibióticos a los que cada gen confiere resistencia.

Tabla 3.5: Lista de conjuntos de genes de resistencia a polimixinas, betalactámicos y múltiples fármacos

Antibiótico	Conjunto de genes	Especie		
		<i>B. orbicola</i>	<i>M. morgani</i>	<i>S. nevei</i>
Polimixinas	<i>Operón arnBCADTEF</i>	7	7	7
	<i>eptAB</i>	0	1	2
Betalactámicos	<i>ampC-R</i>	3	5	5
	<i>ompA-W</i>	3	5	6
	<i>pbpE-G</i>	1	1	0
	<i>Bla1-2</i>	2	0	0
Múltiples fármacos	<i>AcrAB-TolC</i>	3	4	5
	<i>MdtA-O</i>	9	7	7
	<i>MexA</i>	1	0	1
	<i>oqx</i>	3	0	1
	<i>EmrA-Y</i>	6	4	4

Como se evidencia en la tabla, para la polimixina, las tres bacterias cuentan con los mismos siete genes del conjunto *arnA-T*, mientras que solo *S. nevei* cuenta con los dos genes *eptAB*, y *M. morgani*, con uno. En cuanto a los betalactámicos, hay presencia del gen *AmpC* en las tres bacterias al igual que genes de la familia *ompA-W*. Asimismo, hay genes de adhesión a penicilinas (*pbpE-G*) en dos de los tres aislados mientras que los genes *blah_1* y *blah_2*, que confieren resistencia a carbapenémicos, solo se evidenciaron en *B. orbicola*. En la **Figura 3.3**, se observan los genes específicos que cada aislado ha presentado, distribuyéndose los genes, por familia, según el color de la escala. A continuación, se describen los genes de resistencia más relevantes para cada antibiótico.

3.3.2.1. Resistencia a polimixinas

Como se mencionó previamente, la resistencia a la colistina es un problema que está en aumento, que últimamente se ha detectado en mayor medida en bacterias Gram negativas como *A. baumannii*, *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa* (Gogry et al., 2021). Existen varios mecanismos responsables de la resistencia a la colistina, como la modificación de porinas de la membrana celular, sobreexpresión de sistemas de eflujo y ciertos mecanismos enzimáticos (Bialvaei & Samadi Kafil, 2015). Si bien en estos ejemplares no se detectaron los genes de resistencia mediada por plásmidos, los *mcrI – mcr10*, sí se detectaron sistemas de doble componentes, como *pmrAB* y *PhoPQ* (Schwarz & Johnson, 2016; Bialvaei & Samadi Kafil, 2015). En *Morganella morganii* se identificaron los genes *PhoPQ* y *mgrB*, que, aunque también están relacionados con la virulencia, tienen un importante rol en la resistencia a la colistina; ya que según Roch et al. (2022), las modificaciones en el regulador negativo de *PhoPQ*, *mgrB*, conferirían resistencia a las polimixinas, al promover la modificación del lípido A de la membrana bacteriana. De igual manera, la resistencia a este antibiótico llega por enzimas sobreexpresadas como la *eptA* o el *arnT*, cuya función es añadir grupos funcionales (fosfoetanolaminas y l-arabinosa respectivamente) al lípido A de la membrana bacteriana, por medio de los operones *eptA-pmrAB* y *arnBCADTEF* (Aghapour et al., 2019). En este caso, se evidenciaron los genes del primer operón: *eptA* y *eptB* en *Serratia nevei* y *eptA* en *Morganella morganii*; y del segundo operón: *arnA*, *arnB*, *arnC*, *arnD*, *arnE*, *arnF* y *arnT*, en los tres ejemplares; esto se observa de manera más detallada en el **Anexo 1**. Es importante recalcar que la resistencia a la colistina en microorganismos como *Burkholderia*, *Serratia* y

Morganella es intrínseca, lo que quiere decir que se encuentra en el cromosoma bacteriano y no en elementos transmisibles como plásmidos y transposones (Aghapour et al., 2019).

3.3.2.2. Resistencia a betalactámicos

La resistencia a los betalactámicos tiene varios contribuyentes en este estudio, tal y como se observa en la **Figura 3.3**. En primer lugar, en los tres aislados se detectó el gen *AmpC* y sus reguladores: *ampD*, *ampE*, *ampG*, *ampH*, *ampR*. La función de dicho gen es hidrolizar el anillo betalactámico de estos antibióticos, para evitar que estos se adhieran a sus sitios diana, como las proteínas de unión a penicilinas (PBPs) (Juan et al., 2018). De acuerdo con Mina Ortiz et al. (2021), estos genes funcionan así: *ampR* es un regulador que en condiciones normales, minimiza la expresión del gen *AmpC*; sin embargo, cuando los antibióticos betalactámicos promueven la degradación de los péptidos de la membrana, los péptidos suelen acumularse y competir por ciertos componentes celulares presentes, como el N-acetilmurámico, que al verse disminuido, los péptidos en exceso se ven forzados a unirse con el *ampR*, inhabilitando su función, y por ende, promoviendo la acción de *AmpC*. A su vez, *ampD* se encarga de cortar los residuos membranales para reducir la unión a *ampR*, sin embargo, *ampG*, involucrado en la degradación de péptidos aumenta su actividad, lo que desencadena eventos en cascada: se sobrepasa la capacidad de *AmpD* de escindir péptidos logrando que se aumenta la unión de péptidos a *ampR*, reduciendo su actividad y por ende, incrementando el nivel de funcionamiento de *AmpC* (Juan et al., 2018). Estas enzimas, también llamadas cefalosporinasas, confieren resistencia a antibióticos como cefalosporinas de primera y segunda generación, penicilinas e inhibidores clásicos de betalactamasas, como el ácido clavulánico (Urban-Chmiel et al., 2022). Los genes Amp conforman los genes más

reportados como contribuyentes a la resistencia a los betalactámicos. Un estudio en Argelia demuestra la dispersión de estos genes en Enterobacterales por medio de comida callejera, como sándwiches listos para comer, que estaban presentes en 6 de 14 muestras procesadas (Yaici et al., 2017). En otro estudio realizado en China, se detectaron genes de *AmpC* en el 13,6% de muestras que incluían: carne cruda, productos acuáticos, vegetales y alimentos listos para consumir. Adicionalmente, el 4,4% de los aislados correspondía a *S. marcescens* y el 15%, a *M. morgani* (Ye et al., 2017), lo que coincide parcialmente con los resultados de este estudio, considerando que hasta hace poco *S. nevei* se reportaba como subespecie de *S. marcescens*.

Otro grupo de genes relevantes en este contexto son aquellos que codifican para porinas, proteínas de membrana asociadas con la regulación de la permeabilidad y resistencia a antibióticos (Choi & Lee, 2019). Los genes codificantes para porinas, específicamente *ompC*, *ompF* y *PhoE*, son los que se reportan en gran medida como contribuyentes a la RAM. De acuerdo con Vergalli et al. (2020), las porinas son el medio preferencial de entrada para los betalactámicos incluyendo cefalosporinas, penicilinas y carbapenémicos por lo que sus alteraciones o mutaciones pueden provocar un aumento en la resistencia a estos antibióticos, disminuyendo la permeabilidad de la célula bacteriana o incrementando el eflujo de componentes (Pagès et al., 2016). En este trabajo, se identificaron los genes: *ompA*, *ompC*, *ompD*, *ompN*, *ompR*, *ompW*, *ompX* y *phoE*, sin embargo, ningún aislado tiene el gen *ompF*, lo que podría indicar una posible función parcial de estas porinas. Adicionalmente, el resto de las porinas también son relevantes y no solo en la resistencia a betalactámicos; por ejemplo, estudios revelan que *ompA*, al funcionar como estabilizador de la membrana, puede

contribuir a la resistencia de colistina, trimetoprim, glicopéptidos y demás, lo mismo sucede con *OmpW* (G. Zhou et al., 2023; Smani et al., 2014).

De igual manera, las proteínas de unión a penicilina también juegan un rol importante en la RAM, pues además de ser el sitio de unión de los antibióticos, también juegan un rol fundamental en el ensamblaje de la membrana bacteriana, haciéndolas relevantes para la virulencia también, aspecto que se profundizará más adelante (Welsh et al., 2017). Los resultados bioinformáticos indican la presencia de genes *pbp* directamente, como lo son *pbpE* (presente en *M. morgani*), *pbpG* (presente en *B. orbicola*) y *pbpC* (en los tres aislados). Dichos genes son el sitio diana de los antibióticos betalactámicos, por lo que posibles alteraciones o mutaciones pueden afectar su nivel o mecanismo de expresión, contribuyendo a la RAM (Delgadillo-Valles et al., 2024). Otros genes relacionados con este mecanismo son: *ftsI*, *mrcA* y *mrcB*; el primero de ellos, presente en los tres aislados (en *B. orbicola* está su homólogo *PenA*), codifica para una PBP3. Según Chen et al. (2017) al silenciar estos genes del genoma de *P. aeruginosa*, la sensibilidad a antibióticos betalactámicos aumenta ocho veces para carbapenémicos (Imipenem) y ocho veces para cefalosporinas de cuarta generación (Cefepime); lo que demuestra el rol de este gen en la RAM. Por otro lado, los genes *mrcA* y *mrcB*, detectados en los tres aislados, han demostrado ser importantes en la resistencia de otros microorganismos como *Haemophilus parasuis* y *Stenotrophomonas maltophilia*, sin embargo, para la resistencia a betalactámicos en las especies detectadas en este estudio, se requiere de mayor investigación (Heir et al., 2021; Zhao et al., 2024).

Adicionalmente, se han detectado otros genes que aportan a la resistencia a betalactámicos, como lo son los genes *bla_1* y *bla_2*, presentes solo en *B. orbicola*. Según

Bhattacharya et al. (2020), dichos genes codifican para betalactamasas tipo A y metalobetalactamasas respectivamente, lo que contribuye a la resistencia de penicilinas y cefalosporinas en este aislado (Urquiza Ayala et al., 2018). Además, en este aislado se evidenció el gen *arpC*, que forma parte del complejo dependiente de ATP: *arpABC*, que codifica para bombas de eflujo de antibióticos betalactámicos (Kusumawardhani et al., 2021). Este complejo se ha reportado previamente en especies como *Pseudomonas putida*, también se ha reportado en *Serratia marcescens* y en el género *Burkholderia*, lo que coincide parcialmente con los resultados de este estudio, ya que *B. orbicola* es el único de los tres ejemplares que presenta dicho gen. Según reportes, *arpC* contribuye a la resistencia a antibióticos como la amoxicilina con ácido clavulánico (Yao et al., 2017; M. Wang et al., 2023; Overmeyer et al., 2023).

3.3.2.3. Resistencia a múltiples antibióticos

De igual manera, en este estudio se detectaron genes que confieren resistencia a múltiples antibióticos, que se evidencian en la **Figura 3.3**. Es importante mencionar que la mayoría de resistencia a múltiples antibióticos está mediada por bombas de eflujo que, dependiendo de su mecanismo y estructura, pueden ser de varios tipos. De acuerdo con Hajiagha & Kafil (2023), existen seis tipos de bombas de eflujo, diferenciadas por su estructura: RND, ABC, MFS, SMR, MATE y PACE, de las cuales, en este estudio se detectaron RND y ABC.

En primer lugar, los genes *AcrAB-TolC*, que codifican para una bomba de eflujo compuesta por: *AcrA*, *AcrB*, *AcrF*, *ArcZ*. La función de una bomba de este tipo es expulsar compuestos tóxicos de la célula, ya que sirve como un sistema de defensa bacteriano. De los

cinco tipos de bomba, el complejo *AcrAB-TolC* pertenece al tipo RND: resistencia – nodulación – división, y consta de tres partes estructurales: la proteína intermembrana *AcrB* que actúa como un embudo al cual se adhieren diversas moléculas, *AcrA*, proteína periplásmica que une los otros dos elementos de la bomba, y *TolC*, que conforma el canal hacia el exterior de la célula (Jang, 2023). Esta bomba contribuye con la resistencia a cloranfenicol, kanamicina (aminoglucósido), eritromicina (macrólido), fluoroquinolonas, ácido nalidíxico, entre otros (Nolivos et al., 2019); algunos estudios detallan que esta bomba no solo contribuye directamente a la RAM, sino que, en algunos casos, también puede acelerar el nivel de mutaciones y evolución de la bacteria, incrementando la aparición de resistencias (Langevin et al., 2020). Estos genes, si bien están presentes en estos aislados, han sido reportados con mayor frecuencia en otras especies como *E. coli*, *S. typhimurium*, o *B. thailandensis* (Chodkowski & Shade, 2022; Esteves et al., 2021).

También se detectaron genes de las familias Mdt (multidrug resistance transporters: *MdtABC*, *MdtEF* y *MdtL*): *MdtA*, *MdtB*, *MdtC*, *mdtE*, *MdtG*, *MdtH*, *MdtK*, *MdtL*, *MdtLN* y *MdtO*. Estas familias también son bombas de eflujo de tipo RND, que se encargan de expulsar de la célula una variedad de antibióticos y otros compuestos tóxicos, para disminuir su concentración celular y así, evitar su efecto bactericida (Pos, 2024). En la literatura existe un mayor reporte e investigación sobre las bombas *MdtABC* y *MdtEF* (Horiyama & Nishino, 2014; Cho & Misra, 2021). La primera de estas bombas, a diferencia de otras bombas RND, se compone de dos bombas de eflujo (*MdtB* y *MdtC*). La presencia de estos genes permite a las bacterias resistir el efecto de varios antibióticos, incluyendo aminoglucósidos,

tetraciclinas y macrólidos (Radi et al., 2022). Esta bomba también ha sido reportada en y *S. marscesens* (Staats et al., 2022) y en *E. coli* (Radi et al., 2022). Adicionalmente, un estudio realizado en el 2021 demostró que el funcionamiento de estas bombas depende de mutaciones de otros genes, como *crp*, *baeSR* o *hns* (Cho & Misra, 2021)

Después de haber discutido las resistencias fenotípicas y genotípicas encontradas en las muestras, es necesario contrastarlas, para determinar si existe discrepancia o concordancia entre estos dos aspectos. A continuación, la **Tabla 3.6** describe los resultados genotípicos y los fenotípicos de cada bacteria para los antibióticos estudiados.

Tabla 3.6: Concordancia entre resultados fenotípicos y genotípicos

Antibiótico	Bacteria	Fenotipo (resistente o sensible)	Genotipo (familias de genes que confieren resistencia)
Cefoxitin (Cefalosporinas de 2da generación)	<i>B. orbicola</i>	Resistente	<i>Bla_1, bla_2 Amp, Omp</i>
	<i>M. morganii</i>	Resistente	<i>Amp, Omp</i>
	<i>S. nevei</i>	Resistente	<i>Amp, Omp</i>
Amoxicilina y ácido clavulánico (Betalactámico)	<i>B. orbicola</i>	Resistente	<i>AmpC, Omp, arpC</i>
	<i>M. morganii</i>	Resistente	<i>AmpC, Omp</i>
	<i>S. nevei</i>	Resistente	<i>AmpC, Omp</i>

Antibiótico	Bacteria	Fenotipo (resistente o sensible)	Genotipo (familias de genes que confieren resistencia)
Cefepime (Cefalosporinas de 4ta generación)	<i>B. orbicola</i>	Resistente	<i>Bla_1, AmpC</i>
	<i>M. morganii</i>	Sensible	No identificado
	<i>S. nevei</i>	Sensible	No identificado
Meropenem e Imipenem (Carbapenémicos)	<i>B. orbicola</i>	Sensible	No identificado
	<i>M. morganii</i>	Sensible	No identificado
	<i>S. nevei</i>	Sensible	No identificado
Colistina (Polimixina E)	<i>B. orbicola</i>	Resistente	<i>arnBCADTEF</i>
	<i>M. morganii</i>	Resistente	<i>arnBCADTEF, eptA</i>
	<i>S. nevei</i>	Resistente	<i>arnBCADTEF, eptAB</i>

De manera general, los resultados de la **Tabla 3.6** indican que, para los antibióticos testeados en el antibiograma, existe una concordancia entre los resultados genotípicos y

fenotípicos. Si bien existen más genes de resistencia, esta concordancia o discrepancia no puede ser evaluada, debido a la falta de más pruebas fenotípicas.

3.3.3. Factores de virulencia

Los genes de virulencia son relevantes porque a partir de ellos se define el nivel de éxito que tiene un microorganismo de infectar y multiplicarse en un huésped por medio de diversos mecanismos (Sinha & Rahul, 2019). A continuación, se discuten los genes más relevantes para el contexto investigativo.

Si bien se detectaron factores de virulencia relacionados con evasión del sistema inmune, sideróforos, sistemas de secreción y toxinas, hay una predominancia de factores relacionados con la adhesión para *M. morganii* y *S. nevei* e invasión bacteriana para *B. orbicola*, tal y como se observa en la **Tabla 3.8**. De igual manera, se evidencia que *S. nevei* es la bacteria con más factores de virulencia entre los tres aislados (238 genes), mientras que *B. orbicola* es la que menor número tiene (175). Los genes de factores de virulencia obtenidos se observan en la **Figura 3.8**. A continuación se detallan los genes de mayor relevancia relacionados con la virulencia bacteriana.

Tabla 3.7: Factores de virulencia identificados en cada aislado clasificados por su tipo

Factor de virulencia	Aislados		
	<i>B. orbicola</i>	<i>M. morganii</i>	<i>S. nevei</i>
Adhesión	42	71	72
Invasión	51	63	52

Factor de virulencia	Aislados		
	<i>B. orbicola</i>	<i>M. morgani</i>	<i>S. nevei</i>
Evasión del sistema inmune	33	42	53
Sistemas de secreción	15	18	9
Toxinas	18	13	26
Sideróforos	15	15	26
Total	175	222	238

En primer lugar, los genes de adhesión promueven la adherencia de la bacteria a su huésped, tal y como su nombre lo indica (Liu et al., 2022). Entre los genes de este tipo más reportados se destacan los del conjunto *fimA*, *fimD* y *fimC*, presentes en los tres aislados. Dichos genes han sido ampliamente reportados como contribuyentes a la virulencia bacteriana por medio de la formación de biopelículas (Zhou et al., 2020). Estos genes han sido reportados en otros microorganismos como *Salmonella enterica*, y *Escherichia coli* (Meng et al., 2019; Liu et al., 2022).

En estos aislados, también se detectaron factores de invasión cuya función es facilitar la entrada del microorganismo en las células o tejidos del huésped. En este caso, se identificó en todos los aislados el conjunto de genes *bam* (por su nombre beta-barrel assembly machine): *bamA*, *bamC*, *bamD* y *bamE*. Dicho conjunto se encarga de ensamblar proteínas del mismo nombre en la membrana celular, para asegurar la colonización de la bacteria (Lithgow, 2017), haciéndolos un objetivo común de los antibióticos. Este gen ha sido

reportado en otros microorganismos como en *P. aeruginosa* (Klein et al., 2019) y *E. coli* (Misra et al., 2015).

En cuanto a los factores de evasión del sistema inmune, los genes que están relacionados con la evasión del sistema inmune son aquellos que interactúan de manera directa con la respuesta del huésped (Méndez-López, 2020). El gen *baeR*, encontrado en este proyecto, no ha sido muy reportado en las especies de estos aislados; sin embargo, en cepas de *Salmonella* ha sido reconocido como un inductor de respuesta inflamatoria, ya que activa las proteínas quinasas activadas por mitógenos, promoviendo la inflamación (Lee et al., 2016).

Genes de virulencia



Figura 3.4: Factores de virulencia de cada aislado agrupados según su tipo de factor

Una vez estudiados los genes resistencia y virulencia de cada aislado secuenciado, es pertinente comparar la cantidad de genes que comparten y que mantienen para sí. La **Figura 3.5** indica la cantidad de genes de resistencia y virulencia encontrados en cada ejemplar, junto con los que comparten entre sí. Para los genes de virulencia, hay un total de 37 genes siendo compartidos entre los tres aislados, 49 genes en común entre *S. nevei* y *M. morganii*, 16 entre *M. morganii* y *B. orbicola* y 43 entre *B. orbicola* y *S. nevei*. Por otro lado, para los genes de resistencia, hay un total de 14 genes en común para los tres aislados, 29 genes compartidos entre *S. nevei* y *M. morganii*, 6 entre *M. morganii* y *B. orbicola* y 12 entre *B. orbicola* y *S. nevei*.

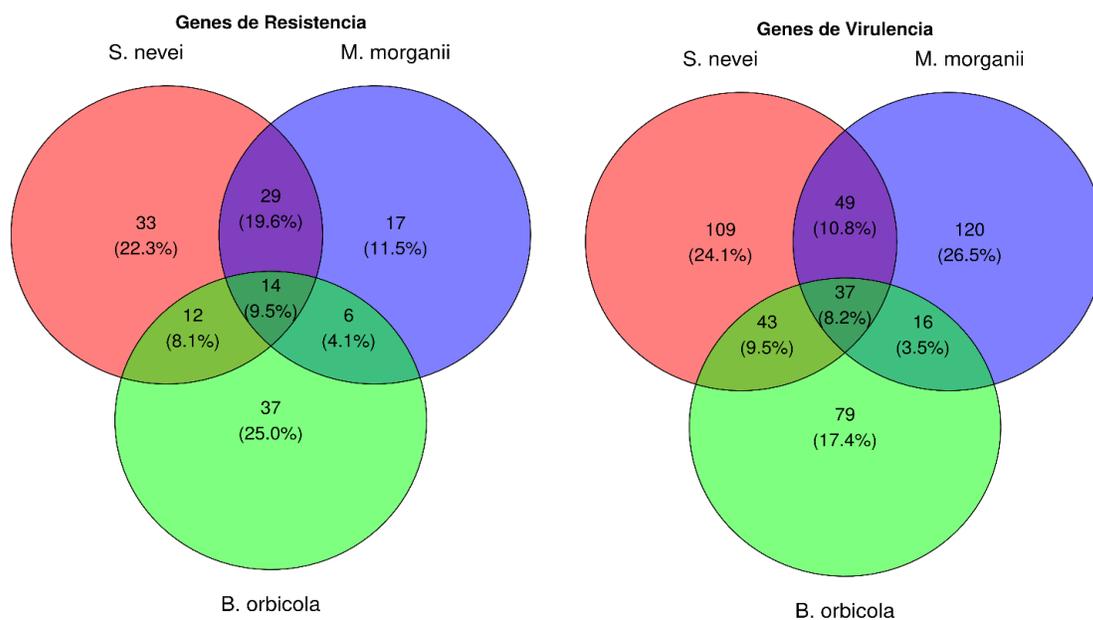


Figura 3.5: Distribución de los genes de resistencia y virulencia de cada aislado

De manera general, se evidencia mayor similitud de genes entre los aislados de *S. nevei* y *M. morganii* para los genes de resistencia y virulencia (29 y 37 genes compartidos respectivamente) que con *B. orbicola* (12 y 6, y 43 y 16 respectivamente). Esto se puede justificar con la cercanía evolutiva que tienen los aislados entre sí, pues los tres ejemplares comparten su descendencia hasta el filo (Pseudomonadata), desde ese nivel en adelante existe una separación entre *B. orbicola* que pasa a la clase Betaproteobacterias, y *M. morganii* y *S. nevei*. Estas últimas pertenecen a la misma clase (Gammaproteobacterias) y al orden de Enterobacterales (NCBI, n.d.). De hecho, tal y como demuestra el filograma de la **Figura 3.6**, realizado por máxima verosimilitud, hay una gran distancia entre las dos especies mencionadas y *B. orbicola*. *M. morganii* y *S. nevei* comparten un ancestro en común adicional con una distancia muy pequeña en comparación a la que hay con la otra bacteria.

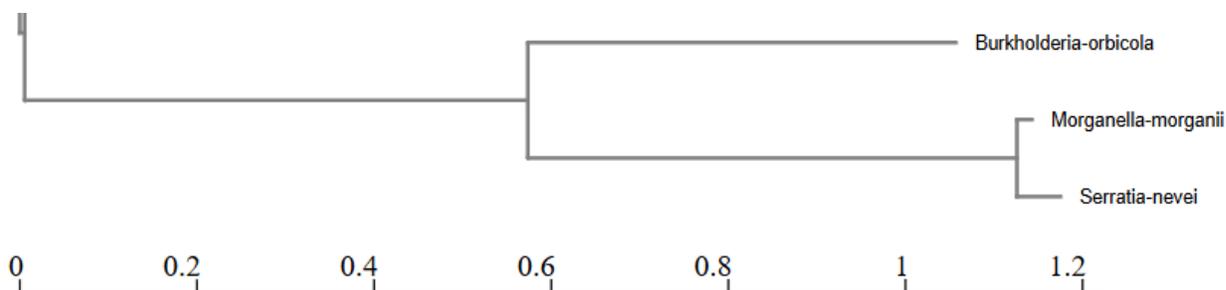


Figura 3.6: Árbol filogenético de las tres especies secuenciadas en este estudio

3.3.4. Elementos transponibles

Por medio de herramientas bioinformáticas también se pudieron identificar elementos transponibles en los tres aislados. Aquel con más de estos genes fue el de la especie *B. orbicola*, con un total de 51, seguido de *M. morganii* con 25 y luego *S. nevei* con 5; todos

ellos distribuidos en 16 familias. Entre los grupos de elementos transponibles, los más grandes son: IS3, con 23 elementos entre las tres muestras, IS110, con 11 elementos y Tn3 con 9. Por el contrario, las familias de transposones con la menor frecuencia son ISNCY, con dos genes de ellos en una sola especie e IS30 e IS4 con un gen en dos especies respectivamente.

Con base en lo establecido por Babakhani & Oloomi (2018), casi todos los elementos transponibles identificados en este proyecto, corresponden a secuencias de inserción (IS), que se caracterizan por ser transposones del tipo más simple y pequeño (> 2500bp) que no transportan genes adicionales y su mecanismo de acción es solamente la posible inserción en un segmento genético, provocando su inactivación. Adicionalmente, de todos los tipos de transposones, las secuencias de inserción son transposones de ADN, de clase 2 y por lo usual, tienen en sus extremos, secuencias invertidas (Popa et al., 2018).

Un estudio realizado por Razavi et al. (2020), detectó que las familias de secuencias de inserción de mayor impacto en bacterias Gram negativas eran IS3, IS4/5, IS256, IS240 y Tn3. Esto coincide parcialmente con la **Figura 3.7**, el transposón con más frecuencia en los aislados es el IS3, sin embargo, después de eso están el IS110, Tn3, IS4/5, como se detalló previamente.

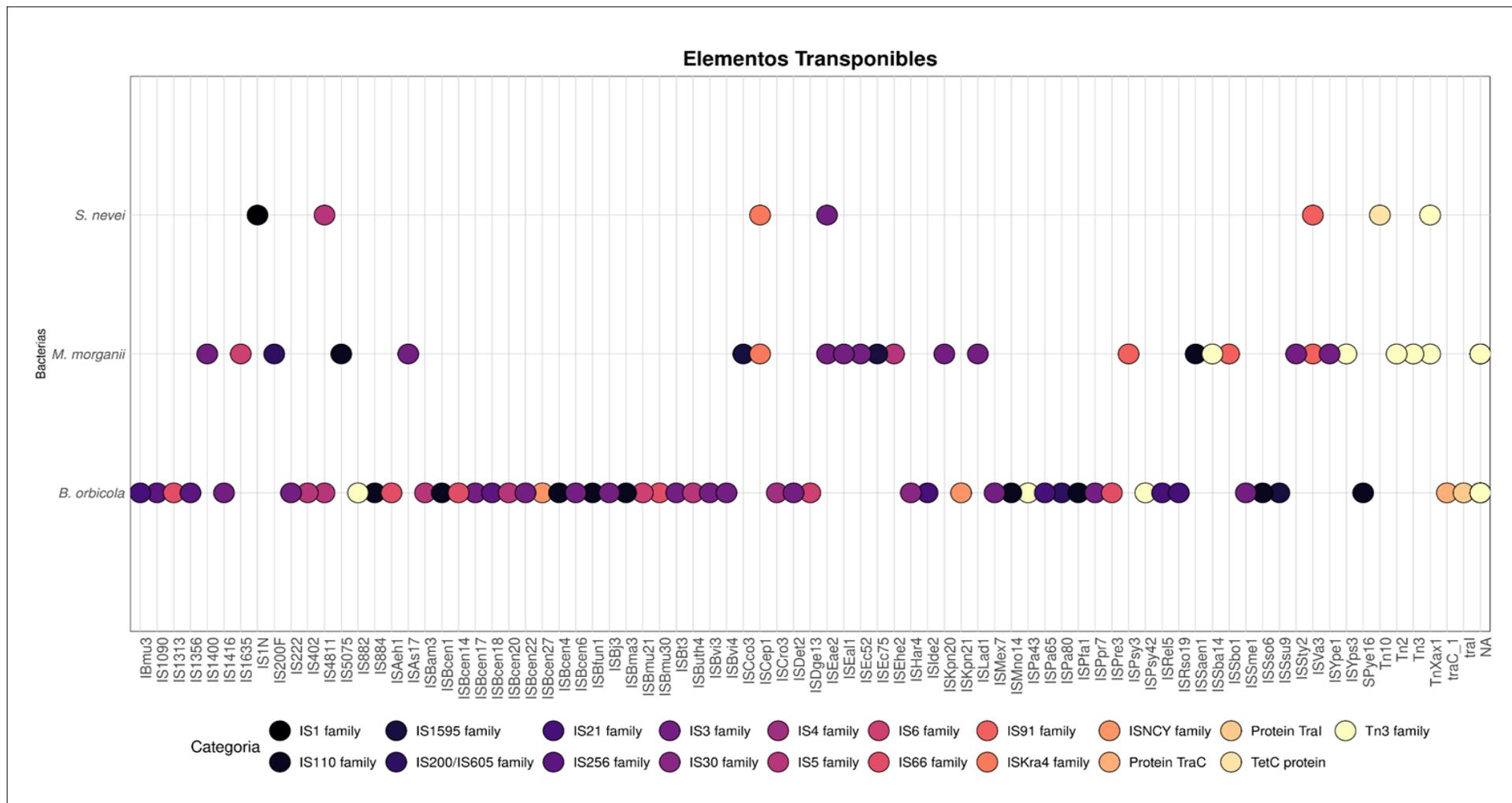


Figura 3.7: Elementos transponibles identificados en los aislados de este estudio clasificados por especie

3.3.5. Evaluación del riesgo sanitario

Si bien ya sean discutido los genes de resistencia y virulencia identificados en estos aislados, es importante discutir sobre su identidad bacteriana, ya que esto se relaciona en gran medida con el posible riesgo sanitario que poseen al ser resistentes y estar presentes en un vehículo de transmisión, como lo es la comida callejera. Por ello, la **Tabla 3.8** a continuación, indica las especies de bacterias obtenidas a través de la secuenciación de genoma completo; la primera muestra corresponde a la bacteria *Burkholderia orbicola*, la segunda a *Morganella morganii* y la tercera, a *Serratia nevei*.

Tabla 3.8: Especies identificadas de los aislados secuenciados

Muestra	Identidad
QC-EJI-CEV-L-005-C	<i>Burkholderia orbicola</i>
QC-EJI-CEV-L-005-D	<i>Morganella morganii</i>
QC-EJI-JUG-L-006-A	<i>Serratia nevei</i>

Es importante mencionar que no se detectaron bacterias enteropatógenas como *E. coli*, *Klebsiella*, ni *Salmonella*; el estudio realizado por Harada et al. (2018), que buscaba genes de resistencia en vegetales listos para comer en Japón, concuerda con la ausencia de *Salmonella*, pero discrepa en la presencia de *E. coli*, y *Klebsiella*. De igual manera, Giri et al. (2021), que buscó identificar bacterias productoras de betalactamasas en comida callejera de la India, reporta presencia de *E. coli* y *Klebsiella* en un 22,88% y 27,12% respectivamente, sin embargo, no menciona la identidad del resto de bacterias aisladas.

3.3.5.1. Burkholderia orbicola

El género *Burkholderia*, se compone de unas 100 especies bacterianas aproximadamente que han sido descubiertas con el pasar del tiempo; de ellas, algunas son beneficiosas para el ambiente, mientras que otras resultan un peligro para los seres vivos (Eberl & Vandamme, 2016). A *Burkholderia orbicola* específicamente se lo considera parte del complejo *Burkholderia cepacia*, que incluye a al menos 22 especies de patógenos oportunistas que afectan en mayor medida a pacientes con fibrosis quística o inmunocomprometidos (Rojas–Rojas et al., 2018; Morales–Ruiz, 2022); por esto, se toma como referencia la información reportada para el complejo *Burkholderia cepacia*. Estas bacterias son de mayor relevancia en el contexto nosocomial ya que, además de poseer una fuerte resistencia antimicrobiana intrínseca, su estructura les brinda la capacidad de adherirse a células o superficies como catéteres y tubos de respiración, lo que permite la colonización de huéspedes debilitados (Rojas y Guzmán, 2024).

A pesar de que *Burkholderia orbicola* no haya sido reportada en comida previamente, se la halla en ambientes naturales como la tierra o el agua, incluso se la usa como aditivo agrícola para promover el desarrollo vegetal (Morya et al., 2020), lo que puede justificar su presencia en alimentos. Según la literatura, esta especie bacteriana ha sido reportada como un patógeno para vegetales, como la cebolla (Paudel et al., 2024) pero también como una fuente de producción de metabolitos secundarios con aplicaciones industriales y de remediación ambiental (Kunakom & Eustáquio, 2019).

3.3.5.2. *Morganella morganii*

La presencia de esta bacteria en comida no es la primera, de acuerdo con un estudio realizado por Khater et al. (2021), que investigaba patógenos en comida, detectó este microorganismo en el 3,5% de muestras que pertenecían a carne, queso y leche. Además, Ryser et al. (2021), reportaron crecimiento de *Morganella morganii* en 11 diferentes muestras de quesos y demostraron que posee resistencia a ampicilina, tetraciclina, colistina y tigeciclina. Adicionalmente, a pesar de que se trata de una bacteria entérica en mamíferos (Liu et al., 2016), en China se han reportado infecciones por este microorganismo en animales bovinos, con una mortalidad del 57%, al igual que una múltiple resistencia a gentamicina, sulfadiazina, penicilina y florfenicol (Li et al., 2018).

Esta bacteria es catalogada como patógeno oportunista y abarca una variedad de enfermedades adquiridas clínica y comunitariamente, como diarrea, abscesos, infecciones del tracto urinario y sepsis (Rahman et al., 2020). Además, actúa como un gran reservorio de genes de resistencia a antibióticos, que posteriormente, son transferidos a otras bacterias con mayor probabilidad de causar infección; esto, adicional al amplio número de hospederos que tiene, hacen de este microorganismo una gran amenaza en el contexto de la resistencia antibiótica (Bandy, 2020). En Ecuador, una cepa multirresistente de *Morganella morganii* fue detectada en el río Chibunga, en Chimborazo, lo que indica su diseminación en diferentes ambientes de la naturaleza (Guillén-Ferraro et al., 2024).

3.3.5.3. *Serratia nevei*

El tercer aislado secuenciado corresponde a la bacteria *Serratia nevei*, una gamma proteobacteria mótil y en forma de bacilos que recientemente era clasificada como subespecie

de *Serratia marcescens*, por su alto nivel de similitud de características (Santos et al., 2022). Al igual que *Morganella morganii*, esta no es la primera vez que se reporta esta especie en alimentos, sobre todo de origen callejero. Ferdus et al. (2024) encontraron a *Serratia* spp., como los organismos con mayor predominancia en sus muestras durante un estudio microbiológico de comida callejera; con una sensibilidad a gentamicina, ciprofloxacina y amoxicilina. Otro estudio realizado en Egipto concuerda con la presencia de dicha especie en la comida callejera como carne de origen animal (Khater et al., 2021).

Adicionalmente, esta bacteria se relaciona con varias enfermedades, entre ellas: gastrointestinales, neumonía, infecciones de heridas, endocarditis y bacteriemias que son evidenciadas en el contexto hospitalario, generalmente por contaminación de equipos o soluciones médicas (Roy et al., 2023; Zia et al., 2016). Esta especie representa una amenaza para la salud pública, ya que, por sus características de virulencia como la formación de biofilms, producción de enzimas y capacidad de adaptación a diferentes condiciones, es capaz de sobrevivir y proliferar en diferentes ambientes, incluso donde el control de asepsia es muy alto (Khayat et al., 2023).

Como se mencionó previamente, las bacterias identificadas en este estudio no son enteropatógenas, es decir que no causan infecciones en el tracto intestinal, sino que más bien, prolifera en ese ambiente sin causar daño al huésped (González-Torrallba et al., 2018) Sin embargo, esto no indica que no sean de relevancia investigativa, pues existen varios estudios que discuten la implicancia de bacterias entéricas no patógenas multirresistentes en la microbiota del ser humano. En primer lugar, López-Velandia et al., (2016) recalcan que las enterobacterias son responsables del 30% de sepsis y el 75% de aislamientos del tracto

urinario, lo que indica que, a pesar de no ser enteropatógenas, pueden causar afecciones en otros sistemas del cuerpo. Adicional a eso, Pan et al. (2022) argumentan que las bacterias de la microbiota humana actúan como un reservorio de genes de resistencia que, naturalmente, pueden llegar a posibles patógenos por medio de la transferencia horizontal de genes. Adicionalmente, Tahmasebi et al. (2025), establecen que el aumento de genes de resistencia a antibióticos en el tracto digestivo humano puede dificultar el tratamiento de infecciones intestinales, debido a una persistencia bacteriana crecida por la presencia de genes de RAM. A nivel comunitario, esto puede traducirse en una diseminación de bacterias multirresistentes por medio del contagio entre individuos, evento que resulta más peligroso para personas inmunocomprometidas, ya que la colonización de microorganismos multirresistentes se incrementa (Pan et al., 2022).

3.4. Limitaciones asociadas a este estudio y perspectivas futuras

Una de las principales limitaciones de la investigación se basa en la restricción geográfica de la recolección de muestras, ya que, además de haber realizado un muestreo por conveniencia, solo se consideraron alimentos vendidos en parques y plazas del centro de Quito. Esto no permite una representación completa del panorama microbiológico de la comida callejera en otras zonas de la ciudad ni en otras regiones del país. Además, al centrarse únicamente en la identificación de genes de resistencia, virulencia y transposones, no se evaluó el nivel de expresión génica; lo que podría limitar la interpretación del riesgo real para la salud pública. También, el enfoque en un solo tipo de ambiente urbano reduce la

posibilidad de generalizar los resultados a otras condiciones socioeconómicas o sanitarias que podrían influir en la presencia y diseminación de estos genes.

Como perspectivas futuras, existen algunos factores que podrían tomarse en cuenta para afinar los detalles de investigación de RAM en comida callejera. En primer lugar, se plantea ampliar el muestreo a otras zonas de la ciudad de Quito y a distintas regiones del país, con el fin de obtener una visión más representativa y comprensiva del problema. Asimismo, sería relevante complementar los análisis genéticos con estudios fenotípicos para correlacionar la presencia de genes con la expresión real de resistencia y virulencia, fortaleciendo así la evaluación del riesgo sanitario. También se recomienda investigar la relación entre las condiciones higiénico-sanitarias de los puntos de venta y la presencia de bacterias multirresistentes, así como explorar posibles rutas de transmisión genética entre bacterias ambientales, animales y humanas desde un enfoque One Health. Finalmente, integrar tecnologías de secuenciación de nueva generación permitiría un análisis más profundo de los mecanismos de diseminación, incluidos plásmidos, integrones y otros elementos móviles.

4. Conclusiones

Las pruebas microbiológicas realizadas contribuyeron a la selección y aislamiento de bacterias de interés para la investigación. Además, este estudio permitió el aislamiento de Enterobacterales en el 100% de las muestras recolectadas, lo que indica que las bacterias resistentes presentes en la comida callejera del centro del DMQ, son de origen entérico. Esto,

confirma que la comida callejera es un medio de disseminación de genes de resistencia a antibióticos.

Por otro lado, los análisis de susceptibilidad a antimicrobianos revelaron una prevalencia de resistencia del 100% para amoxicilina – ácido clavulánico, variación en cefalosporinas de 2da y cuarta generación (con una sola muestra resistente a cefepime y tres a cefoxitina). Además, estos hallazgos son consistentes con estudios previos que han documentado la resistencia en bacterias aisladas de comida callejera en otras ciudades de Ecuador. La correcta caracterización de perfiles de resistencia fenotípicos lograda en este estudio, dio paso a la selección acertada de cepas de interés para su posterior análisis genómico.

La identificación de genes de resistencia a betalactámicos y colistina, junto con factores de virulencia, sugiere que las cepas aisladas no solo son resistentes, sino que también poseen características que aumentan su capacidad de causar enfermedad. La detección de genes relevantes y previamente reportados en la literatura como contribuyentes a la RAM revelan una uniformidad y concordancia con la situación actual, es decir, el hecho de reportar los genes previamente detectados demuestra que la tendencia de la resistencia a antimicrobianos se mantiene e incluso aumenta. Además, la secuenciación de genoma completo destaca que estos genes se encuentran en bacterias entéricas no patógenas, lo que significa que se trata de bacterias que actúan como reservorios de genes de RAM. A su vez, esto se traduce en una mayor dificultad en el tratamiento de las infecciones, disseminación de estas bacterias por medio del contagio y, por ende, un riesgo de salud pública prominente.

Identificar genes de resistencia antimicrobiana presentes en especies bacterianas obtenidas a partir de comida callejera procedente de zonas urbanas del centro del Distrito Metropolitano de Quito (DMQ), mediante análisis microbiológicos y moleculares, para la determinación de una posible fuente de propagación de bacterias multirresistentes.

En definitiva, la identificación de genes de resistencia antimicrobiana en la comida callejera del centro del DMQ de este estudio revela la presencia de microorganismos multirresistentes, lo que sugiere que estos alimentos actúan como reservorios y fuentes de diseminación de resistencia a antibióticos en la comunidad. De igual manera, la presencia de genes de resistencia en los aislados confirma la concordancia entre las características genotípicas y fenotípicas en todas las muestras seleccionadas. La presencia de estas cepas en comida callejera resalta la necesidad urgente de establecer políticas de mitigación y control de la situación, con enfoques de vigilancia y regulación de los puestos de comida callejera ya que la diseminación de resistencia a antibióticos puede tener repercusiones graves en la salud pública. Además, considerando que la investigación en este ámbito es limitada en Ecuador, hace que estos hallazgos sean aún más relevantes para establecer políticas de salud pública efectivas ya mencionadas.

5. Recomendaciones

Esta investigación permitió determinar qué genes de resistencia están circulando en qué bacterias Gram negativas del centro de Quito específicamente, sin embargo, para profundizar la investigación se recomienda lo siguiente:

- a. Ampliar la cantidad de datos analizados, es decir, incrementar el número de muestras, al igual que la cantidad de sectores de la ciudad y el tipo de muestras que se estudia. De esta manera, se tendría una visión global más completa sobre la dispersión de genes de RAM por la ciudad. Una vez que esto se haga, se podrá repetir la metodología, pero a nivel nacional. Dentro de ese contexto, sería relevante investigar la relación que tiene la zona de muestreo con las bacterias que puedan estar presentes, por ejemplo, comparar los aislados obtenidos en cuerpos de agua con los de zonas hospitalarias, donde pueden predominar patógenos oportunistas y ultrarresistentes.
- b. Realizar un análisis de mutaciones en los genes de resistencia encontrados e identificar alteraciones específicas, comparando con los genomas referenciales de las bacterias aisladas, por medio de bases de datos, y así determinar si tiene un efecto sobre la resistencia, virulencia, metabolismo o fisiología de la bacteria.
- c. Realizar un análisis de expresión, ya sea por medio de análisis de ARN o de proteínas, para identificar qué genes, sobre todo de los relacionados con RAM, se expresan en la bacteria, y de esta manera determinar qué mecanismo contribuye a la resistencia.
- d. De manera global, es recomendable contar con un sistema que realicen vigilancia y control de manera eficiente, y que también permita informar a la población, y sobre todo a las autoridades competentes, sobre la diseminación de genes con resistencia a antibióticos, con énfasis en antibióticos de último recurso, como la colistina o los carbapenémicos. Para asegurar un monitoreo global, es fundamental trabajar desde el enfoque One Health, donde se consideren los mismos factores sobre la diseminación

de genes de resistencia desde diferentes perspectivas y se tomen decisiones informadas.

6. Referencias

- Acosta España, J. (2021). RESISTANCE TO ANTIBIOTIC AGENTS: PERSPECTIVE AND REALITY. *Revista Medica Vozandes*, 32(1). <https://doi.org/10.48018/rmv.v32.i1.e>
- Administración Zonal Manuela Sáenz. (2020). Informe Técnico Delimitación Barrial. Administración Zonal Manuela Sáenz. https://www7.quito.gob.ec/mdmq_ordenanzas/Administraci%C3%B3n%202019-2023/Comisiones%20del%20Concejo%20Metropolitano/Usode%20Suelo/Mesas%20de%20Trabajo/.pdf
- Agencia Nacional de Regulación, C. y V. S. (2024, November). *Combatimos la Resistencia Antimicrobiana: La Próxima Gran Amenaza para la Salud Pública*. Combatimos La Resistencia Antimicrobiana: La Próxima Gran Amenaza Para La Salud Pública.
- Aghapour, Z., Gholizadeh, P., Ganbarov, K., bialvaei, A. Z., Mahmood, S. S., Tanomand, A., Yousefi, M., Asgharzadeh, M., Yousefi, B., & Samadi Kafil, H. (2019). <p>Molecular mechanisms related to colistin resistance in Enterobacteriaceae</p>. *Infection and Drug Resistance*, Volume 12, 965–975. <https://doi.org/10.2147/IDR.S199844>
- Alazmi, M., & Motwalli, O. (2024). Discovery of Natural Compound-Based Lead Molecule against Acetyltransferase Type 1 Bacterial Enzyme from *Morganella morganii* Using Machine Learning-Enabled Molecular Dynamics Simulation. *Processes*, 12(6), 1047. <https://doi.org/10.3390/pr12061047>
- Babines-Orozco, L., Balbuena-Alonso, M. G., Barrios-Villa, E., Lozano-Zarain, P., Martínez-Laguna, Y., Del Carmen Rohca-Gracia, R., & Cortés-Cortés, G. (2024). Antimicrobial resistance in food-associated *Escherichia coli* in Mexico and Latin America. *Bioscience of Microbiota, Food and Health*, 43(1), 2023–022. <https://doi.org/10.12938/bmfh.2023-022>

- Banco Mundial. (2017). DRUG-RESISTANT INFECTIONS A Threat to Our Economic Future. World Bank Group.
<https://documents1.worldbank.org/curated/en/323311493396993758/pdf/final-report.pdf>
- Bandy, A. (2020). Ringing bells: *Morganella morganii* fights for recognition. *Public Health*, 182, 45–50. <https://doi.org/10.1016/j.puhe.2020.01.016>
- Banik, A., et al. (2018). Microbial Status and Multidrug Resistance Pattern of Pathogenic Bacteria Isolated from Street Food in Dhaka City, Bangladesh. *Journal of Advances in Microbiology*. DOI: 10.9734/JAMB/2018/44163
- Baquero, F., Coque, T. M., Martínez, J.-L., Aracil-Gisbert, S., & Lanza, V. F. (2019). Gene Transmission in the One Health Microbiosphere and the Channels of Antimicrobial Resistance. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02892>
- Barbosa, J., et al. (2020). Resistencia a los antimicrobianos: tiempo para la acción. *Rev. Panam Salud Pública*. doi: 10.26633/RPSP.2020.122
- Baykov, N., et al. (2015). Antibiotic Resistance in Animal and Environmental Samples associated with Small-Scale Poultry Farming in North-western Ecuador. *American Society for Microbiology*. doi:10.1128/mSphere.00021-15.
- Bello.Fernández, Z., et al. (2018). Resistencia antimicrobiana en pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos. *Revista Electrónica Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta*.
- Bengtsson-Palme, J., Kristiansson, E., & Larsson, D. G. J. (2018). Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. *FEMS Microbiology Reviews*, 42(1). <https://doi.org/10.1093/femsre/fux053>
- Bertram, R., Neumann, B., & Schuster, C. F. (2022). Status quo of tet regulation in bacteria. *Microbial Biotechnology*, 15(4), 1101–1119. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13926>
- Bhattacharya, S., Junghare, V., Pandey, N. K., Ghosh, D., Patra, H., & Hazra, S. (2020). An insight into the complete biophysical and biochemical characterization of novel class A

- beta-lactamase (Bla1) from *Bacillus anthracis*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 145, 510–526. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.136>
- Bialvaei, A. Z., & Samadi Kafil, H. (2015). Colistin, mechanisms and prevalence of resistance. *Current Medical Research and Opinion*, 31(4), 707–721. <https://doi.org/10.1185/03007995.2015.1018989>
- Braykov, N. P., Eisenberg, J. N. S., Grossman, M., Zhang, L., Vasco, K., Cevallos, W., Muñoz, D., Acevedo, A., Moser, K. A., Marrs, C. F., Foxman, B., Trostle, J., Trueba, G., & Levy, K. (2016). *Antibiotic Resistance in Animal and Environmental Samples Associated with Small-Scale Poultry Farming in Northwestern Ecuador*. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00021>
- BULLETIN OF UNIVERSITY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND VETERINARY MEDICINE CLUJ-NAPOCA AGRICULTURE. <https://journals.usamvcluj.ro/index.php/agriculture/article/view/11178>
- Burckhardt, R. M., & Escalante-Semerena, J. C. (2017). In *Bacillus subtilis*, the SatA (Formerly YyaR) Acetyltransferase Detoxifies Streptothricin via Lysine Acetylation. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(21). <https://doi.org/10.1128/AEM.01590-17>
- Campos, J., et al. (2015). Ready-to-eat street-vended food as a potential vehicle of bacterial pathogens and antimicrobial resistance: An exploratory study in Porto region, Portugal. *International Journal of Food Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.016>
- Caycedo, L et al. (2021). Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química. NOVA. <https://doi.org/10.22490/24629448.5293>
- Chauhan, A., & Jindal, T. (2020). *Microbiological Methods for Environment, Food and Pharmaceutical Analysis*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-52024-3>
- Chauhan, A., Jindal, T. (2020). *Microbiological Methods for Environment, Food and Pharmaceutical Analysis*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-52024-3>

- Chavarría, C. et al. (2019). Presencia de enterobacterias en insumos de uso agrícola en La Comarca Lagunera. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i5.1812>
- Chávez-Jacobo, V. (2020). Resistencia bacteriana a antimicrobianos: Un problema de salud pública sin ESKAPE. Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, UMSNH. <chrome-extension://efaidnbnmnnibpcajpcglclefindmkaj/file:///C:/Users/silvv/Downloads/Dialnet-ResistenciaBacterianaAAntimicrobianos-9147032.pdf>
- Chávez-Jacobo, V. M. (2020). La batalla contra las superbacterias: No más antimicrobianos, no hay ESKAPE. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 23. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.202>
- Chen, W., Zhang, Y.-M., & Davies, C. (2017). Penicillin-Binding Protein 3 Is Essential for Growth of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61(1). <https://doi.org/10.1128/AAC.01651-16>
- Cho, H., & Misra, R. (2021). Mutational Activation of Antibiotic-Resistant Mechanisms in the Absence of Major Drug Efflux Systems of *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 203(14). <https://doi.org/10.1128/JB.00109-21>
- Chodkowski, J. L., & Shade, A. (2022). A coevolution experiment reveals parallel mutations in the AcrA-AcrB-TolC efflux pump that contributes to bacterial antibiotic resistance. <https://doi.org/10.1101/2022.03.16.484489>
- Choi, U., & Lee, C.-R. (2019). Distinct Roles of Outer Membrane Porins in Antibiotic Resistance and Membrane Integrity in *Escherichia coli*. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00953>
- CLSI. (2024). *CLSI M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. Clinical and Laboratory Standards Institute. 34th Edition
- Consejo Metropolitano de Quito. (2013). Ordenanza de Zonificación 002. Consejo Metropolitano de Quito. https://www7.quito.gob.ec/mdmq_ordenanzas/ordenanzas/ORDENANZAS%20A%C3

%91OS%20ANTERIORES/ORDZ-002%20-
%20DE%20ORGANIZACION%20TERRITORIAL.pdf

Cortés, G., et al. (2020). Herramientas moleculares utilizadas para el análisis metagenómico. Revisión. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*.
<https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i4.5202>

da Silva, J. B., Espinal, M., & Ramón-Pardo, P. (2020). Resistencia a los antimicrobianos: tiempo para la acción. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 44, 1.
<https://doi.org/10.26633/RPSP.2020.122>

Dadgostar, P. (2019). *Antimicrobial Resistance: Implications and Costs*. Infection and Drug Resistance. Dove Press.
<https://www.tandfonline.com/doi/epdf/10.2147/IDR.S234610?needAccess=true>

Dela, H., et al. (2023). Microbiological quality and antimicrobial resistance of Bacteria species recovered from ready-to-eat food, water samples, and palm swabs of food vendors in Accra, Ghana. *International Journal of Food Microbiology*.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110195>

Delgadillo-Valles, R., Marquez-Salazar, D. A., Rechy-Iruretagoyena, D. A., Hernandez-Acevedo, G. N., Arauz-Cabrera, J. I., & Barrios-Villa, E. (2024). Investigación del perfil de resistencia a betalactámicos en cepas clínicas de *Pseudomonas aeruginosa* en Mexicali, 2019-2021. *Revista Argentina de Microbiología*, 56(4), 368–372.
<https://doi.org/10.1016/j.ram.2024.10.002>

Díaz Cárdenas, B. et al. (2024). Microbial composition and diversity of high-demand street-vended foods in Ecuador. *Journal of Food Protection*, 87(4), 100247.
<https://doi.org/10.1016/j.jfp.2024.100247>

Díaz-Gavidia, C., Álvarez, F. P., Munita, J. M., Cortés, S., & Moreno-Switt, A. I. (2021). Perspective on Clinically-Relevant Antimicrobial Resistant Enterobacteriales in Food: Closing the Gaps Using Genomics. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5.
<https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.667504>

Doncel, A., et al. (2016). Actividad in vitro de bacterias endófitas promotoras de crecimiento asociadas con pasto colosoana en el municipio de Corozal, Sucre. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*.

<https://revistas.unisucre.edu.co/index.php/recia/article/view/391/432>

Eberl, L., & Vandamme, P. (2016). Members of the genus *Burkholderia*: good and bad guys. *F1000Research*, 5, 1007. <https://doi.org/10.12688/f1000research.8221.1>

en La Comarca Lagunera. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*.

<https://doi.org/10.29312/remexca.v10i5.1812>

Esteves, N. C., Porwollik, S., McClelland, M., & Scharf, B. E. (2021). The Multidrug Efflux System AcrABZ-TolC Is Essential for Infection of *Salmonella Typhimurium* by the Flagellum-Dependent Bacteriophage Chi. *Journal of Virology*, 95(11).

<https://doi.org/10.1128/JVI.00394-21>

Ferri, M., et al. (2017). Antimicrobial resistance: A global emerging threat to public health systems. *CRITICAL REVIEWS IN FOOD SCIENCE AND NUTRITION*

<http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2015.1077192>

Geodesy Engineers. (2025). *UTM Geo Map*. UTM Geo Map. <https://www.yogantara.com/>

Giacoboni, I., et al. (2023). DETECCIÓN DE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA.

Universidad Nacional de la Plata.

https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/161995/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1#page=13

Giri, S., Kudva, V., Shetty, K., & Shetty, V. (2021). Prevalence and Characterization of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Ready-to-Eat Street Foods. *Antibiotics*, 10(7), 850.

<https://doi.org/10.3390/antibiotics10070850>

Gogry, F. A., Siddiqui, M. T., Sultan, I., & Haq, Q. Mohd. R. (2021). Current Update on Intrinsic and Acquired Colistin Resistance Mechanisms in Bacteria. *Frontiers in Medicine*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.677720>

- González-Torralba, A., García-Esteban, C., & Alós, J.-I. (2018). Enteropatógenos y antibióticos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 36(1), 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2015.06.015>
- Górecki, K., & McEvoy, M. M. (2020). Phylogenetic analysis reveals an ancient gene duplication as the origin of the MdtABC efflux pump. *PLOS ONE*, 15(2), e0228877. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228877>
- Goyes-Baca, M. J., Sacon-Espinoza, M. R., & Poveda-Paredes, F. X. (2023). Manejo del sistema de salud de Ecuador frente a la resistencia antimicrobiana. *Revista Información Científica*, 102.
- Haney, E., Hancock, R. (2022). Addressing Antibiotic Failure—Beyond Genetically Encoded Antimicrobial Resistance. *Frontiers in Drug Discovery*. <https://doi.org/10.3389/fddsv.2022.892975>
- Harada, T., et al. (2018). Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of Bacterial Pathogens in Ready-to-Eat Foods Retailed in Osaka Prefecture, Japan. *Journal of Food Protection*, Vol. 81, No. 9, 2018, Pages 1450–1458 doi: 10.4315/0362-028X.JFP-18-035
- Heir, E., Moen, B., Åsli, A. W., Sunde, M., & Langsrud, S. (2021). Antibiotic Resistance and Phylogeny of *Pseudomonas* spp. Isolated over Three Decades from Chicken Meat in the Norwegian Food Chain. *Microorganisms*, 9(2), 207. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020207>
- Horiyama, T., & Nishino, K. (2014). AcrB, AcrD, and MdtABC Multidrug Efflux Systems Are Involved in Enterobactin Export in *Escherichia coli*. *PLoS ONE*, 9(9), e108642. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108642>
- Hossein, A., et al. (2024). A Review on Colistin Resistance: An Antibiotic of Last Resort. *Microorganisms*. doi: 10.3390/microorganisms12040772
- Huemer, M., Mairpady Shambat, S., Brugger, S. D., & Zinkernagel, A. S. (2020). Antibiotic resistance and persistence—Implications for human health and treatment perspectives. *EMBO Reports*, 21(12). <https://doi.org/10.15252/embr.202051034>

- Ibrahim, M., Ali, A. (2019). Hygienic evaluation of Liver sandwiches retailed at restaurants and street vendors. *Animal Health Research Journal*.
[/efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/http://animalhealth.ahri.gov.eg/Files/File434957666.pdf](http://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/http://animalhealth.ahri.gov.eg/Files/File434957666.pdf)
- Instituto Nacional de Salud Pública e Investigación Leopoldo Izquieta Pérez (INSPI). (2018). REPORTE DE DATOS DE RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS EN ECUADOR 2014-2018. Ministerio de Salud Pública. https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2019/08/gaceta_ram2018.pdf
- Jahantigh, M., Samadi, K., Dizaji, R. E., & Salari, S. (2020). Antimicrobial resistance and prevalence of tetracycline resistance genes in *Escherichia coli* isolated from lesions of colibacillosis in broiler chickens in Sistan, Iran. *BMC Veterinary Research*, 16(1), 267. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02488-z>
- Jang, S. (2023). AcrAB-TolC, a major efflux pump in Gram negative bacteria: toward understanding its operation mechanism. *BMB Reports*, 56(6), 326–334. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2023-0070>
- Jani, K., et al. (2021). Easy Access to Antibiotics; Spread of Antimicrobial Resistance and Implementation of One Health Approach in India. *J Epidemiol Glob Health*. 10.1007/s44197-021-00008-2
- Jin, L., Pruden, A., Boehm, A. B., Alvarez, P. J. J., Raskin, L., Kohn, T., & Li, X. (2022). Integrating Environmental Dimensions of “One Health” to Combat Antimicrobial Resistance: Essential Research Needs. *Environmental Science & Technology*, 56(21), 14871–14874. <https://doi.org/10.1021/acs.est.2c01651>
- Johura, F.-T., Tasnim, J., Barman, I., Biswas, S. R., Jubyda, F. T., Sultana, M., George, C. M., Camilli, A., Seed, K. D., Ahmed, N., & Alam, M. (2020). Colistin-resistant *Escherichia coli* carrying *mcr-1* in food, water, hand rinse, and healthy human gut in Bangladesh. *Gut Pathogens*, 12(1), 5. <https://doi.org/10.1186/s13099-020-0345-2>

- Juan, C., Torrens, G., Barceló, I. M., & Oliver, A. (2018). Interplay between Peptidoglycan Biology and Virulence in Gram-Negative Pathogens. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 82(4). <https://doi.org/10.1128/MMBR.00033-18>
- Khater, D. F., Lela, R. A., El-Diasty, M., Moustafa, S. A., & Wareth, G. (2021). Detection of harmful foodborne pathogens in food samples at the points of sale by MALDT-TOF MS in Egypt. *BMC Research Notes*, 14(1), 112. <https://doi.org/10.1186/s13104-021-05533-8>
- Khayat, M. T., Elbaramawi, S. S., Nazeih, S. I., Safo, M. K., Khafagy, E.-S., Ali, M. A. M., Abbas, H. A., Hegazy, W. A. H., & Seleem, N. M. (2023). Diminishing the Pathogenesis of the Food-Borne Pathogen *Serratia marcescens* by Low Doses of Sodium Citrate. *Biology*, 12(4), 504. <https://doi.org/10.3390/biology12040504>
- Kim, T., et al. (2018). Octopus-toolkit: a workflow to automate mining of public epigenomic and transcriptomic next-generation sequencing data. *Nucleic Acids Research*, 2018, Vol. 46, No. 9 e53 doi: 10.1093/nar/gky083.
- Klein, K., Sonnabend, M. S., Frank, L., Leibiger, K., Franz-Wachtel, M., Macek, B., Trunk, T., Leo, J. C., Autenrieth, I. B., Schütz, M., & Bohn, E. (2019). Deprivation of the Periplasmic Chaperone SurA Reduces Virulence and Restores Antibiotic Susceptibility of Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00100>
- Koch, S., Lohmann, M., Geppert, J., Stamminger, R., Epp, A., & Böl, G. (2020). Kitchen Hygiene in the Spotlight: How Cooking Shows Influence Viewers' Hygiene Practices. *Risk Analysis*, 41. <https://doi.org/10.1111/risa.13584>.
- Kunakom, S., & Eustáquio, A. S. (2019). Burkholderia as a Source of Natural Products. *Journal of Natural Products*, 82(7), 2018–2037. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.8b01068>
- Kusumawardhani, H., Furtwängler, B., Blommestijn, M., Kaltenyè, A., van der Poel, J., Kolk, J., Hosseini, R., & de Winde, J. H. (2021). Adaptive Laboratory Evolution Restores Solvent Tolerance in Plasmid-Cured *Pseudomonas putida* S12: a Molecular Analysis.

- Applied and Environmental Microbiology, 87(9). <https://doi.org/10.1128/AEM.00041-21>
- La Hora. (2018). 7 de cada 10 quiteños comen fuera de casa. La Hora.
<https://www.lahora.com.ec/noticias/7-de-cada-10-quitenos-comen-fuera-de-casa/>
- Langevin, A. M., El Meouche, I., & Dunlop, M. J. (2020). Mapping the Role of AcrAB-TolC Efflux Pumps in the Evolution of Antibiotic Resistance Reveals Near-MIC Treatments Facilitate Resistance Acquisition. *MSphere*, 5(6).
<https://doi.org/10.1128/mSphere.01056-20>
- Lee, H., & Yoon, Y. (2021). Etiological Agents Implicated in Foodborne Illness World Wide. *Food Science of Animal Resources*, 41(1), 1–7. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2020.e75>
- Lee, S.-J., Birhanu, B. T., Awji, E. G., Kim, M. H., Park, J.-Y., Suh, J.-W., & Park, S.-C. (2016). BaeR protein acts as an activator of nuclear factor-kappa B and Janus kinase 2 to induce inflammation in murine cell lines. *Canadian Journal of Microbiology*, 62(9), 753–761. <https://doi.org/10.1139/cjm-2016-0057>
- León J., et al. (2023). Microbiological control of street foods in Cuenca, Ecuador. *Rev. chil. nutr.* vol.50 no.3 Santiago jun. 2023. <http://dx.doi.org/10.4067/s0717-75182023000300261>
- Li, J., et al. (2020). Dissecting the Molecular Mechanism of Colistin Resistance in *mcr-1* Bacteria. ACS Publications. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.0c01051>
- Lithgow, T. (2017). The Assembly of Beta-Barrel Proteins into Bacterial Outer Membranes. *Biophysical Journal*, 112(3), 329a. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2016.11.1781>
- Liu, Q., Zhu, J., Liu, N., Sun, W., Yu, B., Niu, H., Liu, D., Ouyang, P., Ying, H., Chen, Y., Zhao, G., & Chen, T. (2022). Type I fimbriae subunit *fimA* enhances *Escherichia coli* biofilm formation but affects L-threonine carbon distribution. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.904636>
- Lynch, J., et al. (2021). Escalating antimicrobial resistance among Enterobacteriaceae: focus on carbapenemases. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 22:11, 1455-1474, DOI: 10.1080/14656566.2021.1904891

- López-Velandia DP, Torres-Caycedo MI, Prada- Quiroga CF. Genes de resistencia en bacilos Gram negativos: impacto en la salud pública en Colombia. *Rev Univ. Salud.* 2016;18(1):190-202
- Madaha, EL., et al. (2020). Whole-genome sequence of multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains UY1PSABAL and UY1PSABAL2 isolated from human bronchoalveolar lavage, Yaounde', Cameroon. *PLoS ONE* 15(9): e0238390. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238390>.
- Mancuso, G., et al. (2021). Bacterial Antibiotic Resistance: The Most Critical Pathogens. *Pathogens.* <https://doi.org/10.3390/pathogens10101310>
- Martínez, J., et al. (2014). "Resistencia antibiótica del *Helicobacter pylori* en América Latina y el Caribe." *Revista colombiana de Gastroenterología* 29.3: 218-227.
- Martínez, L., Porras, A. (2021). Lectura interpretada del antibiograma. Guía-ABE. Infecciones en Pediatría. Lectura interpretada del antibiograma. Consultado el dd-mm-aaaa. Disponible en <http://www.guia-abe.es>
- McCarlie, S. J., Boucher, C. E., & Bragg, R. R. (2023). Genomic Islands Identified in Highly Resistant *Serratia* sp. HRI: A Pathway to Discover New Disinfectant Resistance Elements. *Microorganisms*, 11(2), 515. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020515>
- McEwen, O., et al. (2018). Neurotoxicidad asociada a cefepime, reporte de un caso y revisión de la literatura. *Acta Colombiana de Cuidado Intensivo.* <https://doi.org/10.1016/j.acci.2018.06.007> 0122-7262/
- Meini, S., Tascini, C., Cei, M. et al. AmpC β -lactamase-producing Enterobacterales: what a clinician should know. *Infection* 47, 363–375 (2019). <https://doi.org/10.1007/s15010-019-01291-9>
- Melgarejo, N. (2022). Resistencia a colistina en enterobacterales. *Revista de salud pública del Paraguay.* <https://doi.org/10.18004/rspp.diciembre.48>

- Mendes Oliveira, V. R., Paiva, M. C., & Lima, W. G. (2019). Plasmid-mediated colistin resistance in Latin America and Caribbean: A systematic review. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 31, 101459. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2019.07.015>
- Méndez-López, M. V. (2020). Genes y determinantes de virulencia de *Mycobacterium tuberculosis* que contribuyen a la evasión de la respuesta inmune.
- Meng, X., Meng, X., Wang, J., Wang, H., Zhu, C., Ni, J., & Zhu, G. (2019). Small non-coding RNA STnc640 regulates expression of fimA fimbrial gene and virulence of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *BMC Veterinary Research*, 15(1), 319. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2066-7>
- Michael, C., et al. (2014). The Antimicrobial Resistance Crisis: Causes, Consequences, and Management. *Frontiers Public Health*. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2014.00145>
- Mina Ortiz, J. B., Quimis Cañarte, J. E., Pinto Nogales, Vitonera Rogel, R. A., & Lino Villacreses, W. A. (2021). Resistencia antibiótica en bacilos Gram negativos Betalactamasas AmpC. *Dominio de Las Ciencias*, 7(3), 314–340.
- Misra, R., Stikeleather, R., & Gabriele, R. (2015). In Vivo Roles of BamA, BamB and BamD in the Biogenesis of BamA, a Core Protein of the β -Barrel Assembly Machine of *Escherichia coli*. *Journal of Molecular Biology*, 427(5), 1061–1074. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2014.04.021>
- Mondal, A., et al. (2024). A Review on Colistin Resistance: An Antibiotic of Last Resort. *Microorganisms*. doi: 10.3390/microorganisms12040772
- More*, S., & More, Dr. A. (2020). Assessment the Quality of Genome Assemblies by using QUAST Tool for Metagenomics. *International Journal of Recent Technology and Engineering (IJRTE)* (Vol. 8, Issue 6, pp. 4253–4259). Blue Eyes Intelligence Engineering and Sciences Engineering and Sciences Publication - BEIESP. <https://doi.org/10.35940/ijrte.e6435.03862>
- Morya, R., Salvachúa, D., & Thakur, I. (2020). *Burkholderia*: An Untapped but Promising Bacterial Genus for the Conversion of Aromatic Compounds. *Trends in biotechnology*, 38 9, 963-975. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2020.02.008>.

- Murray, J., et al. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: systematic analysis. *The Lancet*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/>
- Naftali, K., Mwambete, K. (2023). District Markets and Antibiotic Sensitivity Profiles of Isolated Contaminant Bacteria. Muhimbili University of Health and Allied Sciences, Tanzania. DOI: 10.9734/JPRI/2023/v35i317463
- NCBI. (n.d.). National Center for Biotechnology Information. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Retrieved January 25, 2025, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- Nolivos, S., Cayron, J., Dedieu, A., Page, A., Delolme, F., & Lesterlin, C. (2019). Role of AcrAB-TolC multidrug efflux pump in drug-resistance acquisition by plasmid transfer. *Science*, 364(6442), 778–782. <https://doi.org/10.1126/science.aav6390>
- ODS. (2024). ODS Territorio Ecuador. ODS. <https://odsterritorioecuador.ec/observatorio-nacional/#3-d>
- OMS. (2015). Worldwide country situation analysis: response to antimicrobial resistance. Organización Mundial de la Salud. <https://www.paho.org/es/node/63913>
- OMS. (2021). Resistencia a los antimicrobianos. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
- Ortega-Paredes, D., et al. (2020). Broiler Farms and Carcasses Are an Important Reservoir of Multi-Drug Resistant *Escherichia coli* in Ecuador. *Sec. Veterinary Epidemiology and Economics*. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.547843>
- Overmeyer, A. J., Prentice, E., Brink, A., Lennard, K., & Moodley, C. (2023). The genomic characterization of carbapenem-resistant *Serratia marcescens* at a tertiary hospital in South Africa. *JAC-Antimicrobial Resistance*, 5(4). <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlad089>
- Pagès, J.-M., Peslier, S., Keating, T. A., Lavigne, J.-P., & Nichols, W. W. (2016). Role of the Outer Membrane and Porins in Susceptibility of β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae to Ceftazidime-Avibactam. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(3), 1349–1359. <https://doi.org/10.1128/AAC.01585-15>

- Palomino Castellano, M. N., Manosalva Mugno, A. C., Benavides Raillo, J. S., Chacón Guerra, M. A., Osorio Martinez, L. A., López Petro, K. D., Olivera Gamarra, M. C., Rojo Atehortua, D. C., Maradey Ballestas, C. J., & Del Valle Visbal, E. M. (2024). Impacto De La Resistencia A Los Antibióticos En Latinoamérica En La Última Década. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(6), 4890–4901. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i6.9045
- Palomino, M. et al. (2023). Impacto De La Resistencia A Los Antibióticos En Latinoamérica En La Última Década. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i6.9045
- Pan, X., Zhou, Z., Liu, B., & Wu, Z. (2022). A novel therapeutic concern: Antibiotic resistance genes in common chronic diseases. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1037389>
- Paneri, M., Sevtá, P. (2023). Overview of Antimicrobial Resistance: An Emerging Silent Pandemic. *Global Journal of Medical Pharmaceutical and Biomedical Update*. doi: 10.25259/GJMPBU_153_2022
- Paudel, S., Dutta, B., & Kvitko, B. (2024). Onion-pathogenic *Burkholderia* species: Role and regulation of characterized virulence determinants. *Plant Pathology*, 73(9), 2281–2297. <https://doi.org/10.1111/ppa.13972>
- Pham, A., Volmer, J. G., Chambers, D. C., Smith, D. J., Reid, D. W., Burr, L., & Wells, T. J. (2023). Genomic analyses of *Burkholderia* respiratory isolates indicates two evolutionarily distinct *B. anthina* clades. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1274280>
- Ponce de León Rosales, S., Arredondo Hernández, R., & López Vidal, Y. (2015, September 17). La resistencia a los antibióticos: Un grave problema global. *Gaceta Médica de México*, 681–689.
- Pos, K. M. (2024). RND multidrug efflux transporters: similar appearances, diverse actions. *Journal of Bacteriology*, 206(1). <https://doi.org/10.1128/jb.00403-23>

- Prestinaci, F., et al. (2015). Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. Department of Infectious, Parasitic and Immunomediated Diseases, Istituto Superiore di Sanita`, Rome, Italy. DOI 10.1179/2047773215Y.0000000030.
- Prjibelski, A.D., Antipov, D., Meleshko, D., Lapidus, A.L., & Korobeynikov, A.I. (2020). Using SPAdes De Novo Assembler. *Current Protocols in Bioinformatics*, 70. DOI:[10.1002/cpbi.102](https://doi.org/10.1002/cpbi.102)
- Qamar, M.U.; Aatika; Chughtai, M.I.; Ejaz, H.; Mazhari, B.B.Z.; Maqbool, U.; Alanazi, A.; Alruwaili, Y.; Junaid, K. Antibiotic-Resistant Bacteria, Antimicrobial Resistance Genes, and Antibiotic Residue in Food from Animal Sources: One Health Food Safety Concern. *Microorganisms* 2023, 11, 161. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010161>
- Radi, M. S., Munro, L. J., Salcedo-Sora, J. E., Kim, S. H., Feist, A. M., & Kell, D. B. (2022). Understanding Functional Redundancy and Promiscuity of Multidrug Transporters in *E. coli* under Lipophilic Cation Stress. *Membranes*, 12(12), 1264. <https://doi.org/10.3390/membranes12121264>
- Rahman, A., Bhuiyan, O., Sadique, A., Afroze, T., Sarker, M., Momen, A., Alam, J., Hossain, A., Khan, I., Rahman, K., Kamruzzaman, M., Shams, F., Ahsan, G., & Hossain, M. (2020). Whole genome sequencing provides genomic insights into three *Morganella morganii* strains isolated from bovine rectal swabs in Dhaka, Bangladesh.. *FEMS microbiology letters*. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnaa043>.
- Reeves, C. M., Magallon, J., Rocha, K., Tran, T., Phan, K., Vu, P., Yi, Y., Oakley-Havens, C. L., Cedano, J., Jimenez, V., Ramirez, M. S., & Tolmasky, M. E. (2020). Aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase Type Ib [AAC(6')-Ib]-Mediated Aminoglycoside Resistance: Phenotypic Conversion to Susceptibility by Silver Ions. *Antibiotics*, 10(1), 29. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10010029>
- Rehman, S. (2023). A parallel and silent emerging pandemic: Antimicrobial resistance (AMR) amid COVID-19 pandemic. *Journal of Infection and Public Health*. <https://doi.org/10.1016M>.
- Rivera, L. (2021). Gram staining V.1. [dx.doi.org/10.17504/protocols.io.b2h7qb9n](https://doi.org/10.17504/protocols.io.b2h7qb9n)

- Roch, M., Martins, W. M. B. S., Sierra, R., Gales, A. C., & Andrey, D. O. (2022). Characterization of Amino Acid Substitution W20S in MgrB Involved in Polymyxin Resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *Microbiology Spectrum*, 10(1).
<https://doi.org/10.1128/spectrum.01766-21>
- Rocha, C., et al. (2015). Resistencia emergente a los antibióticos: una amenaza global y un problema crítico en el cuidado de la salud. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342015000100020
- Rodríguez-Patiño, E., Betancourth-Arteaga, I., Romero-Martínez, A. L., & Chávez-Vivas, M. (2024). Bacterias resistentes a los antibióticos en alimentos de origen animal. Revisión sistemática. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 73(4), 313–327.
<https://doi.org/10.37527/2023.73.4.006>
- Rojas, E., Guzmán, K. (2024). 23 Revisión Bibliográfica Bacteria *Burkholderia* sp. y su Relación con las Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud. *Rev. cient. enferm. UNITEPC*. 2024;6(1):23-34. DOI: <https://doi.org/10.36716/unitepc.v6i1.1.44>
- Rojas-Rojas, F., López-Sánchez, D., Meza-Radilla, G., Mendez-Canarios, A., Ibarra, J., & Santos, P. (2019). [The controversial *Burkholderia cepacia* complex, a group of plant growth promoting species and plant, animals and human pathogens]. *Revista Argentina de microbiología*, 51 1, 84-92. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2018.01.002>.
- Roy, S., Wangkheimayum, J., Choudhury, S., Das, B., Mazumder, P., & Bhattacharjee, A. (2023). Occurrence of virulent *Serratia marcescens* with co-existing antibiotic resistance determinants in ready-to-eat food samples. *Journal of Microbiology and Infectious Diseases*, 13(3), 118. <https://doi.org/10.5455/JMID.2023.v13.i3.3>
- Ryser LT, Arias-Roth E, Perreten V, Irmeler S and Bruggmann R (2021) Genetic and Phenotypic Diversity of *Morganella morganii* Isolated From Cheese. *Front. Microbiol.* 12:738492. doi: 10.3389/fmicb.2021.738492

- Salamandane, A., et al. (2021). Microbiological assessment of street foods at the point of sale in Maputo (Mozambique). *Food Quality and Safety*, 2021, 5, 1–9.
doi:10.1093/fqsafe/fyaa030
- Salazar-Llorente, E., et al. (2021). Microbiological Quality of High-Demand Food from Three Major Cities in Ecuador. *Journal of Food Protection*. <https://doi.org/10.4315/JFP-20-271>
- Samtiya, M.; Matthews, K.R.; Dhewa, T.; Puniya, A.K. Antimicrobial Resistance in the Food Chain: Trends, Mechanisms, Pathways, and Possible Regulation Strategies. *Foods* 2022, 11, 2966. <https://doi.org/10.3390/foods11192966>
- Sánchez-Hidalgo, L. (2016). El uso del Sulfato de Colistina en aves y cerdos. *Avivet*. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.agrovetmarket.com/resources/investigacion_y_desarrollo/articulos_tecnicos/uso-sulfato-de-colistina-en-aves-y-cerdos-221132381.pdf
- Santos, A., et al. (2020). Profile of Enterobacteria Resistant to Beta-Lactams. *Antibiotics* MDPI, 9, 410; doi:10.3390/antibiotics9070410
- Santos, S. F., Silva, M. S., Yamane, T., & Da Mota, A. J. (2022). *Serratia nevei* 9rpt1, a Potential Microorganism for Phosphorus Recovery. *Biotechnology Journal International*, 5–10. <https://doi.org/10.9734/bji/2022/v26i330175>
- Schwarz, S., & Johnson, A. P. (2016). Transferable resistance to colistin: a new but old threat: Table 1. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(8), 2066–2070.
<https://doi.org/10.1093/jac/dkw274>
- Shirshikova, T. V., Sierra-Bakhshi, C. G., Kamaletdinova, L. K., Matrosova, L. E., Khabipova, N. N., Evtugyn, V. G., Khilyas, I. V., Danilova, I. V., Mardanova, A. M., Sharipova, M. R., & Bogomolnaya, L. M. (2021). The ABC-Type Efflux Pump MacAB Is Involved in Protection of *Serratia marcescens* against Aminoglycoside Antibiotics, Polymyxins, and Oxidative Stress. *MSphere*, 6(2). <https://doi.org/10.1128/mSphere.00033-21>
- Siddabathuni, A. (2019). Bacteriological Analysis of Ready-to-serve Foods from a South Indian City: A Potential Source for Drug Resistant Pathogens. *Journal of Microbiology and Infectious Diseases*. doi: 10.5799/jmid.574601

- Sinha, R., & Rahul. (2019). Breast tuberculosis. *Indian Journal of Tuberculosis*, 66(1), 6–11.
<https://doi.org/10.1016/j.ijtb.2018.07.003>
- Smani, Y., Fàbrega, A., Roca, I., Sánchez-Encinales, V., Vila, J., & Pachón, J. (2014). Role of OmpA in the Multidrug Resistance Phenotype of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(3), 1806–1808.
<https://doi.org/10.1128/AAC.02101-13>
- Souabni, H., Batista dos Santos, W., Cece, Q., Catoire, L. J., Puvanendran, D., Bavro, V. N., & Picard, M. (2021). Quantitative real-time analysis of the efflux by the MacAB-TolC tripartite efflux pump clarifies the role of ATP hydrolysis within mechanotransmission mechanism. *Communications Biology*, 4(1), 493. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-01997-3>
- Sousa, S., Feliciano, J., Pita, T., Guerreiro, S., & Leitão, J. (2017). *Burkholderia cepacia* Complex Regulation of Virulence Gene Expression: A Review. *Genes*, 8(1), 43.
<https://doi.org/10.3390/genes8010043>
- Staats, G. J., Mc Carlie, S. J., Boucher-van Jaarsveld, C. E., & Bragg, R. R. (2022). Susceptibility Tests and Predictions of Transporter Profile in *Serratia* Species. *Microorganisms*, 10(11), 2257. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10112257>
- Tack, D. M., Marder, E. P., Griffin, P. M., Cieslak, P. R., Dunn, J., Hurd, S., Scallan, E., Lathrop, S., Muse, A., Ryan, P., Smith, K., Tobin-D'Angelo, M., Vugia, D. J., Holt, K. G., Wolpert, B. J., Tauxe, R., & Geissler, A. L. (2019). Preliminary incidence and trends of infections with pathogens transmitted commonly through food — Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. sites, 2015–2018. *American Journal of Transplantation*, 19(6), 1859–1863. <https://doi.org/10.1111/ajt.15412>
- Tahmasebi, H., Arjmand, N., Monemi, M., Babaeizad, A., Alibabaei, F., Alibabaei, N., Bahar, A., Oksenysh, V., & Eslami, M. (2025). From Cure to Crisis: Understanding the Evolution of Antibiotic-Resistant Bacteria in Human Microbiota. *Biomolecules*, 15(1), 93. <https://doi.org/10.3390/biom15010093>

- Tamma, R., et al. (2019). A Primer on AmpC β -Lactamases: Necessary Knowledge for an Increasingly Multidrug-resistant World. *Clinical Infectious Diseases*, Volume 69, Issue 8, 15 October 2019, Pages 1446–1455, <https://doi.org/10.1093/cid/ciz173>
- Tenea, G. et al. (2023). Pathogenic Microorganisms Linked to Fresh Fruits and Juices Purchased at Low-Cost Markets in Ecuador, Potential Carriers of Antibiotic Resistance. *Antibiotics*. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020236>
- Tubón, J., et al. (2022). Data on antibiograms and resistance genes of Enterobacterales isolated from ready-to-eat street food of Ambato, Ecuador. *F1000Res*. doi: 10.12688/f1000research.117116.1
- Udomessien, R., et al. (2022). Enterobacteriaceae Therapy using Bacteriophages: A Review. *Journal of Pharmaceutical Research International*. DOI: 10.9734/JPRI/2022/v34i43A36306
- Urban-Chmiel, R., Marek, A., Stępień-Pyśniak, D., Wieczorek, K., Dec, M., Nowaczek, A., & Osek, J. (2022). Antibiotic Resistance in Bacteria—A Review. *Antibiotics*, 11(8), 1079. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11081079>
- Urquiza Ayala, G., Arce Chuquimia, J., & Alanoca Mamani, G. (2018). RESISTENCIA BACTERIANA POR BETA LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO: UN PROBLEMA CRECIENTE. *Revista Médica La Paz*, 24(2), 77–83. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-89582018000200012&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Varón, M., et al. (2023). *Manual de laboratorio en microbiología general*. Editorial Universidad del Tolima.
- Velasco, A., Velasco, M. (2018). REACCIONES ADVERSAS MEDICAMENTOSAS (RAM). INTERACCIONES MEDICAMENTOSAS. Universidad de Valladolid.
- Vergalli, J., Bodrenko, I. V., Masi, M., Moynié, L., Acosta-Gutiérrez, S., Naismith, J. H., Davin-Regli, A., Ceccarelli, M., van den Berg, B., Winterhalter, M., & Pagès, J.-M. (2020). Porins and small-molecule translocation across the outer membrane of Gram-negative bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 18(3), 164–176. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0294-2>

- Vincenti, S., et al. (2017). Enterobacteriaceae Antibiotic Resistance in Ready-to-Eat Foods Collected from Hospital and Community Canteens: Analysis of Prevalence. *Journal of Food Protection*. doi:10.4315/0362-028X.JFP-17-317
- Vinocur, F. et al. (2021). ESTUDIO RETROSPECTIVO PARA DETERMINAR LA PRESENCIA DE *Escherichia coli* PRODUCTORES DE b-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO Y RESISTENTES A COLISTINA EN ANIMALES PARA CONSUMO HUMANO Y EN MASCOTAS DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES, ARGENTINA. *Veterinaria Cuyana*. ISSN 1850-0900.
<https://openurl.ebsco.com/EPDB%3Aagcd%3A12%3A11086908/detailv2?sid=ebsco%3Aplink%3Ascholar&id=ebsco%3Aagcd%3A157074072&crl=c>
- Wahab, A., et al. (2016). PATHOGENIC BACTERIA ISOLATED FROM COCKROACHES FOUND IN FOOD PREMISES. *Universiti Teknologi Malaysia*.
<https://doi.org/10.11113/jt.v78.9057>
- Wang, M., Duan, X., Wang, X., Huang, D., & Wu, H. (2023). Genome-wide association study of antibiotic resistance in clinical *Burkholderia pseudomallei* strains from Hainan province, China. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3140673/v1>
- Wang, S., Sun, X., & Yuan, Q. (2018). Strategies for enhancing microbial tolerance to inhibitors for biofuel production: A review. *Bioresource Technology*, 258, 302–309.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.03.064>
- Wang, W., Zhu, X., Luo, H., Wang, Z., Hong, A., Zeng, J., Li, L., Wang, D., Deng, X., & Zhao, X. (2023). Bicyclomycin Activity against Multidrug-Resistant Gram-Negative Pathogens. *Microbiology Spectrum*, 11(1). <https://doi.org/10.1128/spectrum.03790-22>
- Welsh, M. A., Taguchi, A., Schaefer, K., Van Tyne, D., Lebreton, F., Gilmore, M. S., Kahne, D., & Walker, S. (2017). Identification of a Functionally Unique Family of Penicillin-Binding Proteins. *Journal of the American Chemical Society*, 139(49), 17727–17730.
<https://doi.org/10.1021/jacs.7b10170>
- Yaici, L., Haenni, M., Métayer, V., Saras, E., Mesbah Zekar, F., Ayad, M., Touati, A., & Madec, J.-Y. (2017a). Spread of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in the community through ready-to-eat sandwiches in Algeria.

- International Journal of Food Microbiology, 245, 66–72.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.01.011>
- Yao, X., Tao, F., Zhang, K., Tang, H., & Xu, P. (2017). Multiple Roles for Two Efflux Pumps in the Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-Degrading *Pseudomonas putida* Strain B6-2 (DSM 28064). *Applied and Environmental Microbiology*, 83(24).
<https://doi.org/10.1128/AEM.01882-17>
- Ye, Q., Wu, Q., Zhang, S., Zhang, J., Yang, G., Wang, H., Huang, J., Chen, M., Xue, L., & Wang, J. (2017). Antibiotic-Resistant Extended Spectrum β -Lactamase- and Plasmid-Mediated AmpC-Producing Enterobacteriaceae Isolated from Retail Food Products and the Pearl River in Guangzhou, China. *Frontiers in Microbiology*, 8.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00096>
- Yu, H., et al. (2021). La humanidad enfrenta un desastre: la resistencia antimicrobiana. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*. http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1729-519X2021000300020&script=sci_arttext&tlng=pt#B4
- Zhao, J., Yang, W., Deng, H., Li, D., Wang, Q., Yi, L., Kuang, Q., Xu, R., Li, D., Li, R., Yu, D., & Yang, B. (2024). Matriline reverses the resistance of *Haemophilus parasuis* to cefaclor by inhibiting the mutations in penicillin-binding protein genes (*ftsI* and *mrcA*). *Frontiers in Microbiology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1364339>
- Zhou, M., Duan, Q., Yang, Y., & Zhu, G. (2020). Use of Fimbrial Rod for F18ab Fimbriae⁺</sup> STEC Colonization to Host Cells. *Journal of Visualized Experiments*, 163. <https://doi.org/10.3791/61761>
- Zia, L. L., Megantara, I., & Suryosutanto. (2016). Salmonella Species Detection in Chicken Noodle Toppings Prepared by the Food Vendors around Jatinangor Campus of Universitas Padjadjaran. *Althea Medical Journal*, 3(4), 566–569.
<https://doi.org/10.15850/amj.v3n4.940>
- Zurita, J., et al. (2020). Ready-to-eat street food: a potential source for dissemination of multidrug-resistant *Escherichia coli* epidemic clones in Quito, Ecuador. *Letters in Applied Microbiology*. doi:10.1111/lam.13263

7. Anexos

Anexo 1: Genes de resistencia a antibióticos encontrados en cada bacteria, clasificados por tipo de antibiótico al que dan resistencia

Antibiótico	Genes	Especie		
		<i>B. orbicola</i>	<i>M. organii</i>	<i>S. nevei</i>
Polimixinas	<i>arnA</i>		X	X
	<i>arnA_1</i>	X		
	<i>arnB</i>	X		X
	<i>arnB_1</i>		X	
	<i>arnC_1</i>	X	X	X
	<i>arnD</i>	X	X	X
	<i>arnE</i>		X	X
	<i>arnE_1</i>	X		
	<i>arnF</i>	X	X	X
	<i>arnT</i>			X
	<i>arnT_1</i>	X	X	
	<i>eptA</i>			X
	<i>eptB</i>		X	X
	Betalactámicos	<i>amiD_1</i>		X
<i>ampC</i>		X	X	X
<i>ampD</i>		X	X	X
<i>ampE</i>				X
<i>ampG_1</i>			X	
<i>ampH</i>			X	X
<i>ampR</i>		X	X	X
<i>arpC_1</i>		X		
<i>bepC</i>		X		
<i>bla_1</i>		X		
<i>bla_2</i>		X		
<i>dacC_1</i>				X
<i>ftsI_1</i>				X
<i>lpoB</i>			X	X
<i>mepA</i>				X
<i>mprA</i>				X
<i>mrcA</i>			X	X
<i>mrcA_1</i>		X		
<i>mrcB</i>			X	X
<i>mrda_1</i>				X

Antibiótico	Genes	Especie		
		<i>B. orbicola</i>	<i>M. morganii</i>	<i>S. nevei</i>
	<i>ompA</i>		X	
	<i>ompA 1</i>	X		
	<i>ompC</i>		X	X
	<i>ompD</i>		X	
	<i>ompN</i>			X
	<i>ompR</i>		X	X
	<i>ompR 1</i>	X		
	<i>ompW</i>		X	X
	<i>ompW 1</i>	X		
	<i>ompX</i>			X
	<i>oprB</i>			X
	<i>oprD</i>	X		
	<i>pbpG</i>	X		
	<i>pbpE</i>		X	
	<i>ycbB</i>		X	X
Múltiples antibióticos	<i>acrA</i>		X	X
	<i>acrB</i>		X	
	<i>acrB 1</i>	X		X
	<i>acrF</i>			X
	<i>acrF 1</i>	X		
	<i>acrR</i>		X	X
	<i>acrZ</i>		X	
	<i>acrZ 1</i>			X
	<i>arpC</i>			X
	<i>bepE</i>		X	X
	<i>bepF</i>	X		
	<i>bepF 1</i>			X
	<i>bmr3 1</i>	X		X
	<i>bmrR</i>		X	
	<i>emrA 1</i>	X	X	
	<i>emrA 2</i>	X		X
	<i>emrB 1</i>	X	X	
	<i>emrB 2</i>	X		
	<i>emrD</i>		X	X
	<i>emrE</i>	X		X
	<i>jefA 1</i>			X
	<i>emrE 1</i>		X	
	<i>emrY 1</i>	X		
<i>marR 1</i>	X			
<i>mdfA</i>			X	

Antibiótico	Genes	Especie		
		<i>B. orbicola</i>	<i>M. morganii</i>	<i>S. nevei</i>
	<i>mdlB</i>		X	X
	<i>mdtA</i>			X
	<i>mdtA_1</i>	X	X	
	<i>mdtB</i>	X	X	X
	<i>mdtC</i>		X	X
	<i>mdtC_1</i>	X		
	<i>mdtD_1</i>	X		X
	<i>mdtE</i>	X		
	<i>mdtG</i>	X	X	
	<i>mdtH</i>		X	X
	<i>mdtK</i>		X	X
	<i>mdtL</i>		X	X
	<i>mdtL_1</i>	X		
	<i>mdtN</i>	X		
	<i>mdtO</i>	X		
	<i>mexA_1</i>	X		X
	<i>mprA</i>	X	X	X
	<i>nepl_1</i>			X
	<i>norM_1</i>	X		
	<i>oprM_1</i>			X
	<i>oqxB9</i>			X
	<i>oqxB17</i>	X		
	<i>oqxB23</i>	X		
	<i>oqxB28</i>	X		
	<i>stp</i>		X	
	<i>stp_1</i>	X		
	<i>tdeA</i>			X
	<i>tolC_1</i>	X	X	X
	<i>oprM_1</i>	X		
	<i>ybhF</i>		X	X
	<i>ybhR</i>		X	
	<i>ybhR_1</i>			X
	<i>ybhS</i>		X	X
	<i>yheI</i>		X	X