FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Trabajo de fin de Carrera titulado:

IDENTIFICACIÓN DE GENES DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA PRESENTES EN ESPECIES BACTERIANAS OBTENIDAS A PARTIR DE COMIDA CALLEJERA PROCEDENTE DE LOS PARQUES INGLÉS Y LA CAROLINA DEL NORTE DE QUITO, ECUADOR, MEDIANTE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS Y MOLECULARES

Realizado por:

Macarena Benítez Terán

Directores del proyecto:

Dámaris Priscila Intriago Baldeón
Jaime David Acosta España

Como requisito para la obtención del título de:

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA

QUITO, 27 de marzo del 2025

DECLARACIÓN JURAMENTADA

Yo, **Macarena Benítez Terán**, ecuatoriano/a, con cédula de ciudadanía N°**1724150857**, 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.

Firmado electrónicamente por:
MACARENA BENITEZ TERAN

Macarena Benítez Terán

C.I.: 1724150857

DECLARACIÓN DE LOS DIRECTORES 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.

Firmado electrónicamente por:
DAMARIS PRISCILA
INTRIAGO BALDEON

Dámaris Priscila Intriago Baldeón, MSc.

Firmado electrónicamente por:
JAIME DAVID ACOSTA ESPANA
Razón: Tesis
Localización: Uisek
Fecha: 2025-04-07T20:37:13.210437-05:00

Jaime David Acosta-España M.D., M.Sc.

LOS PROFESORES INFORMANTES:

Manuel Andrés Herrera Yela, MSc.

Daniel Alejandro Romero Álvarez, Ph.D.

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

Firmado electrónicamente por:
MANUEL ANDRES HERRERA YELA

Manuel Andrés Herrera Yela, MSc.

Firmado electrónicamente por:
DANIEL ALEJANDRO ROMERO ALVAREZ

Daniel Alejandro Romero Álvarez, Ph.D.

Quito, 27 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.

Firmado electrónicamente por:
MACARENA BENITEZ TERAN

Macarena Benítez Terán

C.I.: 1724150857

AGRADECIMIENTOS

A Pablo, Verónica, María Julia y José Ignacio, gracias por su apoyo incondicional a lo largo de mi carrera. Su confianza en mí ha sido mi mayor fortaleza. Ustedes son mi mayor motivación.

A mis colegas y amigas Genevieve y Daniela, quienes hicieron de este camino un espacio de aprendizaje, amistad y pasión compartida por la ciencia. Su compañía llenó de significado y alegría cada paso de esta experiencia.

A mis tutores Dámaris, Jaime, Andrés y Alex, quienes, con su guía y su ejemplo de excelencia, dejaron en mí una huella profunda, enseñándome no solo a investigar, sino a buscar siempre lo mejor de mí misma.

A mis profesores Jhoanna y Andrés, quienes con dedicación y generosidad me transmitieron habilidades que trascienden lo académico, preparándome para enfrentar los desafíos con humanidad.

A la Dirección de Investigación de la UISEK, por el respaldo brindando, necesario para que este proyecto se materializara y contribuyendo al desarrollo del conocimiento científico.

A todos ustedes, mi más sincero agradecimiento. Este logro no habría sido posible sin su presencia y apoyo.

DEDICATORIA

Para Daniela Brborich, con quien no solo comparto este trabajo; sino también, una amistad excepcional.

“Un amigo es una persona con la que se puede pensar en voz alta”

RESUMEN

La cadena alimentaria constituye el vector óptimo para la propagación de bacterias resistentes a los antibióticos (BRA) en el entorno urbano. Particularmente, la comida callejera se prepara en condiciones insalubres, que frecuentemente conducen al consumo humano de alimentos contaminados con BRA. Los sistemas de vigilancia rara vez se enfocan en esta fuente de infección, especialmente en países de ingresos bajos y medios donde los recursos para el monitoreo de la resistencia antimicrobiana son escasos. Esta falta de vigilancia deja grandes brechas de conocimiento e impide la toma de acciones basadas en evidencia científica. El objetivo de este estudio fue caracterizar la resistencia antimicrobiana en bacterias de alimentos callejeros contaminados del norte de Quito, incluyendo mecanismos de resistencia, identificación génica y análisis de clonalidad. Las muestras de parques frecuentados se sometieron a análisis de laboratorio mediante pruebas de susceptibilidad antimicrobiana y secuenciación de nueva generación. Los resultados indican la presencia de organismos multirresistentes en muestras alimentarias, principalmente bacterias oportunistas que funcionan como reservorios de genes de resistencia. Se identificaron genes de BRA comunes en alimentos, incluyendo *catA*, *bacA*, *tet*, *aph(3')-IIc*, *bcr*, *macB*, *mdtH*, *mdfA*, *mexB*, *TolC*, *acrB*, *emrD*, *FosA* y *oqxAB*. La producción de betalactamasas mediante *ampC*, $_{bla}$*ACT-12* y metalobetalactamasas L1/L2 fue detectada. Se encontró una gran variedad de elementos de movilidad genética que indicaron la capacidad de estos microorganismos para adquirir y transferir genes de resistencia. El análisis de clonalidad reveló alta similitud genética entre muestras de diferentes parques y tipos de alimentos. Estos hallazgos proporcionan evidencia de la presencia y diseminación de BRA en alimentos vendidos en espacios públicos de Quito, destacando la amenaza que representan los alimentos como vector y fuente de infecciones resistentes. Si bien se requiere intervención urgente, es necesaria investigación adicional sobre patrones y fuentes de contaminación para el desarrollo de políticas basadas en evidencia científica.

Palabras clave: resistencia antimicrobiana, genes de resistencia antimicrobiana, comida callejera, bacterias resistentes a antibióticos, resistoma

ABSTRACT

The food chain is the optimal vector for the spread of antimicrobial resistant bacteria (ARB) in the urban environment. Particularly, street food is prepared in unsanitary conditions, which often lead to the human consumption of ARB-contaminated food. Surveillance systems are rarely focused on this source of infection, especially in low- and middle-income countries where resources for antimicrobial resistance monitoring are scarce. The lack of surveillance leaves large gaps of knowledge and impedes science-based action taking. The aim of this study was to characterize antimicrobial resistance in bacteria from contaminated street foods from northern Quito, including resistance mechanisms, gene identification, and clonality analysis. Samples from frequented parks underwent laboratory analysis using antimicrobial susceptibility testing and next generation sequencing. The results indicate the presence of multi-drug resistant organisms in food samples, primarily opportunistic bacteria that function as resistance gene reservoirs. Common food ARB genes were identified, including *catA*, *bacA*, *tet*, *aph(3')-IIc*, *bcr*, *macB*, *mdtH*, *mdfA*, *mexB*, *TolC*, *acrB*, *emrD*, *FosA*, and *oqxAB*. Betalactamase production was detected via *ampC*, $_{bla}$*ACT-12*, and L1/L2 metallobetalactamases. Abundant genetic mobility elements indicated the microorganisms' capacity to acquire and transfer resistance genes. Clonality assessment revealed high genetic similarity from the samples across different parks and types of food. These findings provide evidence of BRA presence and dissemination in food sold in Quito's public spaces, highlighting the significant threat food poses as a vector and source of resistant infections. While urgent intervention is needed, additional research on contamination patterns and sources is required for science-based policy development.

Keywords: antimicrobial resistance, antimicrobial resistance genes, street food, antibiotic resistant bacteria, resistome

TABLA DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN JURAMENTADA ii
DECLARACIÓN DE LOS DIRECTORES DE TESIS iii
DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE v
RESUMEN viii
ABSTRACT ix
INTRODUCCIÓN 1
1. Fundamentos teóricos y terminología de la resistencia antimicrobiana 1
2. Estrategias bacterianas para evadir los antibióticos 4
3. Factores que contribuyen a la aparición y propagación de la resistencia antimicrobiana 6
4. Cifras y consecuencias globales de la resistencia antimicrobiana 8
5. La cadena de alimentos como vehículo de transmisión de resistencia antimicrobiana 9
6. Resistencia antimicrobiana en los alimentos del Ecuador 11
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN 14
JUSTIFICACIÓN 16
OBJETIVOS 17
METODOLOGÍA 18
1. Fase de muestreo 18
2. Fase Analítica *Wet Lab* 21
3. Fase *Dry Lab* 29
RESULTADOS 32
DISCUSIÓN 48
1. Contextualización de resultados en el panorama científico actual 49
2. Interpretación de los perfiles genéticos y fenotípicos de resistencia 56
3. Implicaciones para el sistema de salud y la seguridad alimentaria 59
4. Limitaciones metodológicas y consideraciones futuras 61
CONCLUSIONES 63
RECOMENDACIONES 65
REFERENCIAS 67
ANEXOS 97

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de Antibióticos basado en la información de O'Rourke et al. (2020) 2
Tabla 2. Códigos de identificación de muestras y colonias bacterianas resistentes 21
Tabla 3. Selección de muestras a partir de tinción Gram y características microscópicas 33
Tabla 4. Medición de diámetros en milímetros de pruebas de susceptibilidad a antibióticos. S - susceptible; R - resistente 35
Tabla 5. Resultados de pruebas bioquímicas por muestra en comparación a resultados previamente reportados 37
Tabla 6. Resultados de concentración de ADN por muestra 38
Tabla 7. Sistemas de eflujo y los antibióticos que expulsan 40
Tabla 8. Cantidad de genes intrínsecos y adquiridos por muestra 43
Tabla 9. Genes de virulencia más representativos de los aislados bacterianos 43
Tabla 10. Elementos de movilidad genética por muestra 45
Tabla 11. Distancias filogenéticas basándose en SNPs entre muestras de E.ludwigii y genoma de referencia ASM175072V1 47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismos de Resistencia Antimicrobiana, basado en (Fernández & Hancock, 2012) 6
Figura 2. Epidemiología de la Resistencia Antimicrobiana con base en lo descrito por Linton (1977) y Hillock et al. (2022) 8
Figura 3. Puntos de georreferencia de toma de muestras en el parque La Carolina 19
Figura 4. Puntos de georreferencia de toma de muestras en el parque Inglés 19
Figura 5. Algoritmo adaptado de identificación bioquímica del libro Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology (Procop et al., 2017). 25
Figura 6. Distribución de discos de antibiogrma con método de Jarlier. IMI – Imipenem; MEM – Meropenem, AMC- Amoxicilina + ácido clavulánico; FOX – Cefoxitina; FEP – Cefepime 27
Figura 7. Metodología para aislamiento y análisis de muestras bacterianas resistentes a antibióticos 31
Figura 8. Recuento de colonias bacterianas en medios XLD, MacConkey + Cefepime, Agar Sangre + Colistina 32
Figura 9. Tinciones Gram. A la izquierda el resultado de Gram negativos, en el centro Gram positivos, y en la derecha levaduras 33
Figura 10. Heatmap de sensibilidad y resistencia en antibiogramas 34
Figura 11. Heatmap de sensibilidad y resistencia en análisis de concentración inhibitoria mínima de colistina 34
Figura 12. Genes de resistencia con mayor relevancia por muestra 40
Figura 13. Genes de resistencia encontrados por muestra 41
Figura 14. Resistencia antibiótica por muestra; 1 - QN-CAR-SAL-L-001-C; 2 - QN-ING-CEV-L-004-D; 3 - QN-ING-CEV-L-004-F; 4 - QN-ING-ESP-L-005-D; 5 - QN-ING-ESP-L-005-I 42
Figura 15. Resultados de MLST con respecto a alelos de genes constitutivos. Los códigos de nombre asignados por Galaxy corresponden a las muestras de la siguiente forma: Prokka on data 38 - QN-CAR-SAL-L-1C, Prokka on data 42 - QN-ING-CEV-L-4F, Prokka on data 46 - QN-ING-ESP-L-5D 46
Figura 16. Árbol filogenético a base de SNPs en comparación con genoma de referencia ASM175072V1 47
Figura 17. Imagen microscópica de la muestra bacteriana 5 con la pared perforada y tenue al ser expuesta a carbapenémicos 53

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Genes de virulencia primera parte 98
Anexo 2. Genes de virulencia segunda parte 99
Anexo 3. Genes de virulencia tercera parte 100
Anexo 4. Genes de otros tipos de resistencia 101

INTRODUCCIÓN

1. Fundamentos teóricos y terminología de la resistencia antimicrobiana

La resistencia antimicrobiana (RAM) representa uno de los problemas de salud global más críticos del siglo 21, emergiendo como un fenómeno multifacético complejo y amenaza los pilares fundamentales de la medicina moderna (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2021). En esencia, la RAM es un proceso evolutivo en el cual los microorganismos desarrollan la habilidad de sobrevivir y reproducirse en presencia de sustancias antimicrobianas que usualmente los inhibirían o destruirían (Centers for Disease Control and Prevention [CDC], 2020). En otras palabras, se definen a los términos susceptibilidad antimicrobiana como la condición en la que los microorganismos no pueden sobrevivir en un entorno con antimicrobianos, mientras que la resistencia trata de la supervivencia de estos microorganismos a pesar de la exposición a fármacos antimicrobianos (Martínez & Baquero, 2014). El proceso de desarrollo de resistencia es significativamente acelerado a partir de actividades humanas que impactan en las condiciones y exposición de las bacterias a antibióticos (Holmes et al., 2016). Es decir, el proceso representa una interacción dinámica entre la adaptación microbiológica natural y la presión selectiva que se encuentre en su entorno (Davies & Davies, 2010). En concreto, el evento de exposición antimicrobiana eliminará a las bacterias susceptibles, mientras que aquellas resistentes serán las que proliferen; en este sentido, se provoca un cambio poblacional, en el cual las próximas generaciones tendrán una mayor prevalencia de bacterias resistentes (Andersson & Hughes, 2014). Este problema es de carácter multidisciplinario, e involucra una red de relaciones biológicas entre mecanismos biológicos y evolutivos, sistemas ecológicos y la intervención humana (Robinson et al., 2016).

La pérdida de susceptibilidad a antimicrobianos está mediada a partir de genes de resistencia antimicrobiana (GRA). Se tratan de secuencias genéticas que codifican proteínas para contrarrestar el efecto antimicrobiano (Blair et al. 2015). A partir de los

mismos se determinan las diferentes estrategias de la bacteria para la supervivencia frente a antibióticos. Es decir, hay varios mecanismos que un microorganismo puede utilizar para evadir los efectos del fármaco, de manera que, los GRAs son el componente molecular y genético que permite a las bacterias poseer distintos mecanismos de resistencia (Munita & Arias, 2016). El conjunto de genes de resistencia antimicrobiana en una bacteria se conoce como resistoma (D'Costa et al., 2006). Es fundamental recalcar que no siempre se expresa un gen de resistencia antimicrobiana, es decir se debe realizar una diferenciación entre resistencia fenotípica y genotípica. La resistencia fenotípica es aquella que se manifiesta de manera observable en una población bacteriana, mientras que la resistencia genotípica se refiere a aquellos genes que potencialmente pueden conferir la resistencia, sin relevancia a si este gen se está activamente expresando (Martinez et al., 2015). Hay GRAs que proveen al microorganismo los recursos para combatir múltiples antibióticos, mientras que hay genes específicos para un grupo o familia de antibióticos; esto depende del mecanismo de resistencia que se utilice (Blair et al. 2015). Los antibióticos se clasifican de acuerdo a su método de acción, es decir el proceso metabólico que inhibe. La tabla 1 a continuación describe a los grupos y familias de antibióticos según su efecto y algunos ejemplos de cada uno. Por otro lado, los antibióticos también son catalogados según su prioridad de uso, de manera que, basándose en a factores como necesidad, frecuencia, intensidad y resistencia. De esta forma se busca mantener la efectividad de antibióticos críticos en la medicina humana (Sharland et al., 2018).

Tabla 1. Clasificación de Antibióticos basado en la información de O'Rourke et al. (2020)

INHIBE		CLASIFICACIÓN	ANTIBIÓTICOS
Síntesis de pared celular	**BETALACTÁMICOS**		**Penicilinas**
		Penicilinas Naturales	Na, K, Procain, Benzatin (IM/IV) Fenoximetilpenicilina (VO)
		Aminopenicilinas	Ampicilina, Amoxicilina
		Penicilinas Anti-Estafilocócicas	Meticilina, Nafcilina, Oxacilina, Cloxacilina, Dicloxacilina
		Penicilinas Anti-Pseudomonas	Carboxipenicilinas (Ticarcilina) Ureidopenicilinas (Piperacilina)
		Penicilinas + Inhibidores de B-Lactamasas	Amoxicilina + Ácido Clavulánico, Ampicilina + Sulbactam, Ticarcilina + Ácido Clavulánico, Piperacilina + Tazobactam

	Cefalosporinas	
	1ra Generación	Cefazolina, Cefalexina, Cefadroxil
	2da Generación	Cefuroxima, Cefoxitina, Cefaclor, Cefprozil
	3ra Generación	Ceftriaxona, Ceftazidima, Cefotaxima, Cefixima
	4ta Generación	Cefepima
	5ta Generación	Ceftarolina
	Carbapenémicos	Imipenem, Meropenem, Ertapenem, Doripenem
	Monobactámicos	Aztreonam
	Inhibidores de betalactamasas	Sulbactam, Tazobactam, Ácido Clavulánico
NO BETALACTÁMICOS	Glicopéptidos	Vancomicina, Teicoplanina
Síntesis de Proteínas	Aminoglucósidos	Estreptomicina, Gentamicina, Tobramicina, Amikacina, Neomicina
	Tetraciclinas	Tetraciclina, Doxiciclina, Minociclina
	Macrólidos	Eritromicina, Claritromicina, Azitromicina
	Lincosamidas	Clindamicina
	Fenicoles	Cloranfenicol
Subunidad de la ADN Girasa	Quinolonas	
		1ra Generación: Ácido Nalidíxico
		2da Generación: Ciprofloxacino, Norfloxacino
		3ra Generación: Levofloxacino
		4ta Generación: Moxifloxacino
Síntesis de Ácido Fólico	Sulfonamidas	Sulfametoxazol + Trimetoprima
Doble Ataque (2DA LÍNEA)	Otros	Rifampicina, Metronidazol, Nitrofurantoína

Los GRAs pueden ser compartidos entre especies bacterianas por medio de la transferencia horizontal de genes (THG). Se trata de un proceso natural en el cual los microorganismos traspasan material genético entre sí, incluyendo genes de resistencia (von Wintersdorff et al., 2016). Este paso se puede dar por 3 mecanismos diferentes. La transducción es el paso de genes a través mediante bacteriófagos; la transformación es la captación de ADN del entorno extracelular; y la conjugación es el paso de genes a través de una conexión formada entre dos células (Soucy et al., 2015). Los vectores genéticos es el material genético que va a transportar los genes entre una especie y otra, entre ellos se encuentran los plásmidos, los transposones y los integrones. Los plásmidos son moléculas de ADN circular independientes del ADN cromosómico; los transposones son segmentos

de ADN cromosómico o plasmídico con la capacidad de replicarse e insertarse en otros sitios del genoma, ya sea en la misma bacteria o moverse a un nuevo huésped mediante conjugación; los integrones son grupos de genes llamados casetes genéticos, tienen la característica de ser captadores de genes de resistencia, mismos que pueden ser transferidos a partir de plásmidos o transposones (Partridge et al., 2018). La alta capacidad de ciertas bacterias de adquirir, almacenar y transferir GRAs, convierte a su genoma en un reservorio de RAM. A partir de este reservorio, la diseminación de GRAs provoca la resistencia en patógenos clínicos altamente relevantes, provocando infecciones de complejidad elevada (Bengtsson-Palme et al., 2017).

2. Estrategias bacterianas para evadir los antibióticos

Una vez comprendidos estos conceptos fundamentales sobre los genes de resistencia antimicrobiana, es necesario explorar cómo estos se manifiestan a través de diversos mecanismos de resistencia que las bacterias han desarrollado. Los microorganismos pueden ganar resistencia a través del intercambio genético con otra bacteria, o también, por cuestiones evolutivas. En otras palabras, los GRAs se pueden generar por medio de una mutación natural, que después será transmitida de generación en generación en la misma cepa bacteriana (Woodford & Ellington, 2007). Estos conceptos hacen referencia a la resistencia adquirida y la intrínseca. La resistencia intrínseca no depende de la exposición a antibióticos, ni de la compartición de genes entre bacterias; este tipo de resistencia es propia y común de cada identidad bacteriana, formando parte de sus características biológicas. Se encuentran en el cromosoma bacteriano (Blair et al., 2015). Por otro lado la resistencia adquirida se trata de GRAs que se han obtenido mediante THG pueden ser identificados en plásmidos o secuencias de inserción. Este tipo de resistencia es el resultado de la exposición a antibióticos y el fenómeno de presión selectiva. Tanto las resistencias intrínsecas como adquiridas pueden coexistir dentro de la bacteria, es común encontrar estos casos en Gram negativas. Adicionalmente, mientras una bacteria haya heredado más genes de resistencia, la bacteria presentará mayor facilidad para adquirir

genes de resistencia e incorporarlos a su genoma; llevando así a mayores niveles de resistencia (Arzanlou et al., 2017)

Como se mencionó con anterioridad, los GRAs están ligados a diferentes mecanismos de resistencia que pueden ser altamente específicos a un tipo de antibiótico, como las enzimas que hidrolizan antibióticos, o afines a múltiples antibióticos, como las bombas de eflujo que activamente expulsan antibióticos fuera de la célula (Sun et al., 2014). El mecanismo enzimático se basa en la inactivación o alteración química de los compuestos antimicrobianos. Algunos ejemplos incluyen a las betalactamasas, fosfotranferasas, cloranfenicol acetiltransferasa, y aminoglucósido-modificantes (Fernández & Hancock, 2012). Las bacterias que poseen enzimas que inactivan antibióticos betalactámicos son conocidas como bacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). De manera específica cuando las enzimas utilizadas son carbapenemasas se denominan Enterobacterales productores de carbapenemasas (EPC). La clasificación de Ambler, agrupa las betalactamasas en cuatro clases (A, B, C y D) según la homología de la secuencia primaria de aminoácidos (Giri et al., 2021). Por otro lado, la resistencia a un antibiótico puede surgir a partir de la modificación del sitio diana bacteriano. Es decir, una mutación que altera la afinidad del antibiótico por su molécula objetivo, limitando así la interacción del fármaco. Tal es el caso de las modificaciones del Lípido A, ADN girasa o ARN ribosomal. Por último, las bombas de eflujo y las porinas intervienen en la entrada y salida de antibióticos. Las mutaciones de porinas provocan una disminución en la permeabilidad de la membrana e impiden la entrada del antibiótico a la bacteria. Adicionalmente, si el antibiótico llega al espacio intracelular, las bombas de eflujo se encargan de expulsar activamente al compuesto fuera de la célula (Fernández & Hancock, 2012). La figura 1 a continuación explica de forma gráfica los mecanismos de resistencia antimicrobiana. Es común que los mecanismos enzimáticos sean adquiridos por medio de THG, mientras que las bombas de eflujo y porinas se encuentren en mayor asociación a resistencias cromosómicas intrínsecas (Gaurav et al., 2023; Blair et al., 2015). A pesar de que se evidencie este patrón general, no se trata de una regla establecida, por lo que todos los mecanismos de resistencia pueden venir tanto de genes adquiridos como

intrínsecos. Estos mecanismos están estrechamente relacionados entre sí, pues es muy común que una misma bacteria tenga varios mecanismos trabajando de manera sinérgica. El estudio de El'Garch et al. (2007) demuestra que 4 genes de manera individual causan cierto nivel de resistencia, mientras que al estar presentes en conjunto el efecto fue de 16 hasta 64 veces más resistente.

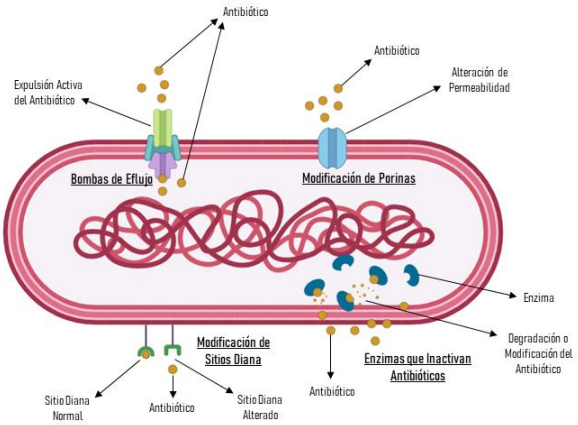


Figura 1. Mecanismos de Resistencia Antimicrobiana, basado en (Fernández & Hancock, 2012)

3. Factores que contribuyen a la aparición y propagación de la resistencia antimicrobiana

Estos mecanismos de resistencia no surgieron ni se diseminaron de manera aislada, sino que su proliferación responde a múltiples factores causales que es necesario analizar para comprender la magnitud del problema. La RAM se trata de un problema persistente que ha visto un incremento alarmante en los últimos años. Esto se debe a los ritmos tan elevados de progresión y al amplio impacto que tiene a escala mundial (Laxminarayan et al., 2013). Los microorganismos incrementaron su capacidad de adaptación y desarrollo de resistencias radicalmente, y si bien, no se puede apuntar a una sola razón principal, la intervención y actividad humana aceleran e intensifican este proceso evolutivo (Holmes et al., 2016). Las causas se tratan de una interconexión multidisciplinaria que puede ser visto desde un punto ecológico como una red profunda de interacciones biológicas; en la cual

interfieren factores como el uso inapropiado de antibióticos en la salud humana, la utilización excesiva de antibióticos en la agricultura, la contaminación ambiental y la dinámica que se mantiene en el sector socioeconómico y cultural en el ámbito de acciones correctivas (Collignon et al., 2018). La interacción detallada de la red ecológica de la RAM se evidencia en la figura 2. En términos generales, las actividades que contribuyen a la formación de resistencias son aquellas que exponen a los microorganismos a cantidades subóptimas de antibióticos. El concepto *One-Health* reconoce que la salud humana, animal y ambiental están interconectadas, siendo fundamental para abordar la RAM de manera integral. Este enfoque enfatiza que los patógenos resistentes circulan entre humanos, animales y el medio ambiente, requiriendo estrategias colaborativas entre sectores para su mitigación efectiva (McEwen & Collignon, 2018). En definitiva, la resistencia antimicrobiana es un problema multifactorial que requiere un enfoque interdisciplinario para su abordaje (Badau, 2021).

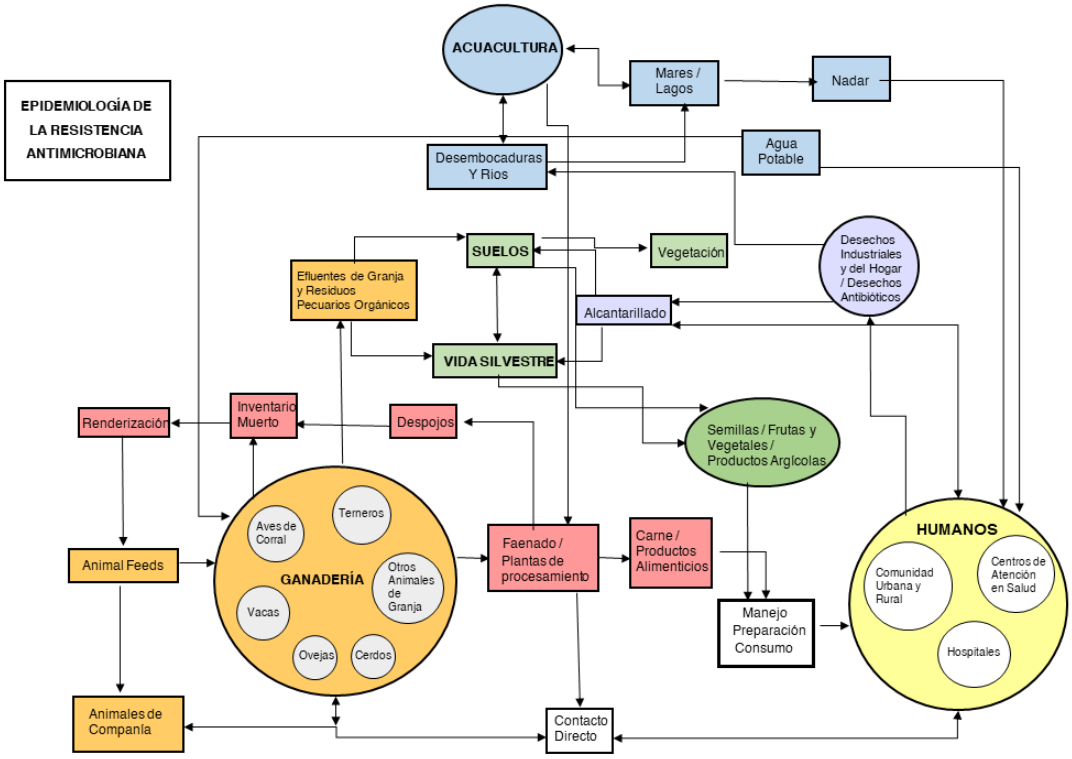


Figura 2. Epidemiología de la Resistencia Antimicrobiana con base en lo descrito por Linton (1977) y Hillock et al. (2022)

4. Cifras y consecuencias globales de la resistencia antimicrobiana

Estas causas multifactoriales generan consecuencias de gran alcance, cuya magnitud se evidencia en las alarmantes estadísticas globales sobre el impacto de la RAM en la salud pública y la economía mundial. Como resultado, enfermedades que antes eran fácilmente tratables están volviendo a ser una amenaza. La RAM emerge como una crisis de salud global con implicaciones devastadoras, evidenciada por estadísticas alarmantes. Anualmente, aproximadamente 1.27 millones de muertes se atribuyen directamente a la RAM, con otros 4.95 millones de fallecimientos asociados a infecciones resistentes, cifras que subrayan la magnitud del problema (Murray et al., 2022). Las proyecciones presentan un panorama negativo, pues se estima que para 2050, la RAM podría causar 10 millones

de muertes anuales, superando al cáncer como principal causa de mortalidad (O'Neill, 2016). Este impacto se traduce en elevados costos económicos, con gastos globales en atención médica estimados en $54 mil millones anuales y pérdidas de productividad que superan los $300 mil millones (OECD, 2018). Las complicaciones derivadas de la RAM incluyen aumentos en la duración de las estancias hospitalarias de 9 días en promedio, tasas de mortalidad 1.93 veces mayores para infecciones resistentes, y un incremento del triple en los costos de tratamiento (Cosgrove, 2006).

La prevalencia de la BRA es alarmante, con más del 60% de los patógenos importantes en regiones latinoamericanas mostrando resistencia a al menos un agente antimicrobiano (PAHO, 2020). Por otra parte, el consumo global de antibióticos incrementó del 65% entre 2000 y 2015; y sin intervención regulatoria, se proyecta un aumento del 200% para 2030 en comparación con los niveles de 2015 (Klein et al., 2018). Las poblaciones de países de bajos o medianos ingresos son especialmente vulnerables a los efectos de la RAM. Se presentan tasas de mortalidad de cuatro a cinco veces mayores que en países de altos ingresos y las infecciones resistentes a los antibióticos comúnmente prescritos representan el 30-50% de las infecciones totales (Laxminarayan et al., 2016).

La RAM amenaza a la medicina moderna, que depende en gran medida de los antibióticos para el uso terapéutico y profiláctico. Ciertos procedimientos comunes se convierten en intervenciones de alto riesgo por el peligro de infección (OMS, 2021). En este sentido, se estima que en un día común, uno de cada 31 pacientes hospitalizados contrae una infección asociada a hospitalización durante su tratamiento (CDC, 2025). Paralelamente, el proceso profiláctico se vuelve 30% menos efectivo a causa de la resistencia (Teillant et al., 2015). Cada vez es más común encontrar microorganismos con resistencia a todos los tratamientos disponibles (Unemo & Schafer., 2019).

5. La cadena de alimentos como vehículo de transmisión de resistencia antimicrobiana

El alimento actúa como un vehículo significativo para la transmisión de BRA y GRAs a los humanos. La cadena de producción alimenticia proporciona múltiples puntos de entrada para organismos resistentes, con animales y cultivos agrícolas expuestos constantemente a antimicrobianos, creando presión selectiva para el desarrollo de resistencia (Samtiya et al., 2022). Las bacterias resistentes pueden transmitirse a través de la cadena alimentaria mediante carne, lácteos, huevos, pescado y productos agrícolas, creando una vía directa desde entornos agrícolas hasta consumidores humanos. Una revisión sistemática de Fusaro et al. (2024) encontró que hasta el 70% de las muestras de comida callejera de países en vías de desarrollo albergaban organismos resistentes. Esta contaminación de la cadena alimentaria es un mecanismo efectivo para la transferencia de bacterias con resistencia antimicrobiana de manera al consumidor humano (Thanner et al., 2016).

El potencial de transmisión de los alimentos se amplifica aún más por las redes comerciales globales que distribuyen productos alimenticios. Liebana et al. (2013) documentaron cómo las cepas bacterianas resistentes pueden cruzar fronteras internacionales a través del comercio de alimentos, al documentar la detección de genes de resistencia en comida importada, causando brotes de infección y la introducción de genes de resistencia al resistoma alimenticio local. Un claro ejemplo es el gen mcr-1, que confiere resistencia a la colistina, se identificó inicialmente en animales de producción de alimentos en China, pero se detectó rápidamente en productos alimenticios e infecciones humanas en 31 países dentro del año siguiente a su descubrimiento (Liu et al., 2016; Wang et al., 2018). Esta rápida diseminación resalta el papel de los alimentos como vector global para la transmisión de la RAM.

El resistoma alimentario representa un amplio reservorio de determinantes de resistencia que pueden transferirse a bacterias asociadas a humanos. Los patógenos transmitidos por alimentos portan genes de resistencia; Jans et al. (2018) documentaron que el 52% de los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos investigados entre 2010 y 2017 involucraron cepas resistentes a antimicrobianos. Estos patógenos pueden

causar infecciones directas, pero también transferir sus capacidades de resistencia. Es decir, más allá de las infecciones directas, los microorganismos en alimentos albergan una extensa colección de GRAs que pueden diseminarse entre especies bacterianas, incluyendo patógenos humanos clínicamente complejos. La movilidad de los GRAs del resistoma alimentario es alarmante, ya que usualmente se localizan en elementos genéticos móviles como plásmidos, transposones e integrones que facilitan la transferencia horizontal de genes (Bengtsson-Palme, 2017).

La comida vendida de manera informal es usualmente producida en espacios inadecuados y altamente expuestos a contaminación. Es común que estos no presenten un ambiente, la estructura y el equipo con las medidas sanitarias pertinentes. El manejo poco higiénico del alimento, el almacenamiento incorrecto y la contaminación cruzada por el ambiente contribuyen a la insalubridad y contaminación bacteriana de los alimentos. El estudio de Campos et al. (2015) encuentra que el 33% de los aislados de *E.coli* analizados presentaban resistencia a uno o más antibióticos. Adicionalmente, Sivakumar et al. (2020) también pudieron identificar resistencia antimicrobiana mediada por betalactamasas en *E.coli* en el 43% de sus muestras. Otro estudio que demuestra la contaminación microbiológica de alimentos con BRA es el de Giri et al. (2021), en el cual se encuentran bacterias multirresistentes en el 25,42% de los aislados. Las características de la venta ambulatoria de comida facilitan la proliferación de microorganismos RAM. El consumo de esta comida contaminada plantea un riesgo directo para el consumidor, pues se facilita la transmisión de bacterias multirresistentes y sus genes a los humanos (Fusaro et al., 2024).

6. Resistencia antimicrobiana en los alimentos del Ecuador

Con respecto a la RAM en comida del Ecuador, son pocos los artículos académicos publicados que investigan el tema. Específicamente en Quito, el estudio de Zurita et al. (2020) reveló la presencia significativa de *Escherichia coli* productoras de BLEE en alimentos para consumir en la calle, con una prevalencia del 22.7% de coliformes resistentes a cefotaxima en 150 muestras analizadas. Estos hallazgos destacan la presencia

de bacterias multirresistentes (MDR) en alimentos de consumo común, con un 85% de los aislados. Además se destaca la detección de genes BLEE como *$_{bla}$CTX-M-55* y *$_{bla}$CTX-M-15*, asociados con la resistencia a antibióticos. La concentración de contaminación en salsas de ají y ensaladas sugiere puntos críticos en la cadena de preparación de alimentos callejeros. Por último, la identificación de linajes clonales como ST162 y ST410, conocidos por su asociación con reservorios humanos y ambientales, subraya el potencial para la transmisión y propagación de estas cepas resistentes y sus respectivos GRAs.

De igual forma, el estudio de Tubón et al. (2022), realizado en la ciudad de Ambato, durante los años 2020 y 2021, analizó cepas de Enterobacterales aisladas de alimentos de venta informal, revelando una alta prevalencia de patógenos como *Escherichia coli, Klebsiella spp.* y *Cronobacter spp.* La evaluación de la resistencia fenotípica demostró niveles preocupantes de resistencia a múltiples antibióticos, aspecto que se confirmó mediante la detección de diversos genes de resistencia a través de ensayos de PCR, en donde se identificaron genes de betalactamasas *$_{bla}$TEM* y *$_{bla}$CMY*. Los hallazgos indican que la resistencia observada tiene una base genética y potencial para ser transferida entre poblaciones bacterianas.

Por último, el estudio de Ortega-Paredes et al. (2018) identifica clonas bacterianas de *E.coli* resistentes en frutas y verduras de venta en mercados. El estudio señala la identificación de especies bacterianas del género *Enterobacter*, la detección de genes de resistencia codificantes para betalactamasas, y el reporte de clonalidad. Los puntos de muestreo se encontraban de manera dispersa en la ciudad, demostrando así la transmisión que hay entre bacterias resistentes por parte de los alimentos. En definitiva, esta investigación hace énfasis en la necesidad del establecimiento de mayor investigación respecto a la dispersión de agentes microbianos resistentes.

Los estudios buscan advocar por la concientización y estrategias de intervención basadas en evidencia científica. Es por ello, que los autores hacen hincapié en la necesidad de una vigilancia epidemiológica de tipo *One-Health* en el que se tome en cuenta los

aspectos de salud humana, animal y ambiental. Adicionalmente, los artículos remarcan la carencia de más estudios sobre RAM en alimentos en el Ecuador. Por esta razón, los escritos enfatizan en la urgencia de estudios de investigación similares que aporten y actualicen constantemente a la información disponible sobre el tema en el país (Tubón et al., 2022; Zurita et al., 2020; Ortega-Paredes et al., 2018).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

La OMS declaró a la RAM como una amenaza prioritaria en temas de salud, y enfatiza en la necesidad de una acción coordinada y multisectorial, a través del enfoque *One-Health* (OMS, 2021). Para la aplicación de medidas con este enfoque, se requiere una comprensión de los patrones de resistencia en las áreas de salud humana, animal y ambiental; esto incluye al sistema de alimentación como un pilar crítico (FAO, 2021). A pesar del reconocimiento global de la importancia y gravedad del problema, existe una brecha significativa de conocimiento con relación a la prevalencia y patrones de RAM en los sistemas alimenticios. Esta situación es especialmente preocupante en países de ingresos medios como Ecuador, donde el déficit informacional sobre la RAM en la producción y consumo de alimentos limita la capacidad de respuesta ante esta amenaza creciente.

En el contexto ecuatoriano, los estudios de RAM en alimentos de venta ambulante se tratan de proyectos de investigación académica, mas no forman parte de un sistema de vigilancia integrado. Se evidencia una brecha en el ámbito de la vigilancia en alimentos de venta en espacios públicos, pues en su mayoría la vigilancia en alimentos en el Ecuador está basada en la producción alimenticia en lugar del consumo final (Secaria & Gabela, 2024). Por otra parte, los datos producidos por el ministerio de salud y otras instituciones gubernamentales son limitados. Los datos que se están tomando no están disponibles para el público, dificultando el uso de estos datos por parte de investigadores académicos. Además, no se ha planteado ningún sistema o alianza estratégica entre las instituciones académicas y entidades gubernamentales para la investigación colaborativa (Torres & López-Cevallos, 2018).

Esto obstaculiza la comprensión total del problema, pero también impide la formulación de estrategias de intervención basadas en evidencia científica. Como asegura la OMS, las decisiones políticas eficientes no pueden ser formuladas e implementadas sin una línea base de información confiable y actualizada (OMS, 2016). Además, Ecuador

enfrenta limitaciones estructurales que obstaculizan los esfuerzos para alcanzar los objetivos de mitigación de RAM. Entre estos desafíos se incluyen infraestructura y recursos insuficientes, así como una estructura regulatoria inestable (Fabre, 2024). Estas barreras no solo afectan la investigación científica, sino que también inhiben la capacidad del país para implementar medidas efectivas de mitigación de la RAM. La ausencia de vigilancia rutinaria en productos alimenticios, especialmente en la venta informal, crea un ciclo problemático donde la falta de evidencia evita la priorización de recursos, y la falta de recursos limita la generación de evidencia necesaria. Este ciclo subraya la urgencia de estudios que, aunque limitados en alcance, puedan proporcionar información preliminar valiosa. Ante este panorama, resulta urgente generar evidencia científica que permita entender mejor la situación actual de la RAM en alimentos en Ecuador. Por ello, este estudio busca responder: **¿Cuáles son las bacterias multirresistentes y los genes de resistencia antimicrobiana presentes en la comida de venta informal del norte del Distrito Metropolitano de Quito?**

JUSTIFICACIÓN

Este estudio sirve como un paso inicial para establecer evidencia preliminar sobre la RAM en alimentos en el norte del DMQ. Sin embargo, se hace énfasis en la necesidad de estudios más exhaustivos para el planteamiento de intervenciones de salud pública. Esta investigación abarca un déficit de información fundamental, al proporcionar datos cualitativos sobre la presencia de BRA en la comida callejera del norte del Distrito Metropolitano de Quito (DMQ). Adicionalmente, este estudio representa un aporte al enfoque *One-Health* en Ecuador, al proporcionar información sobre la resistencia antimicrobiana en muestras de alimentos y su posible relación con la salud humana y ambiental. Asimismo, la caracterización de genes de resistencia en la zona contribuye al mapeo del resistoma local, información crucial para comprender las dinámicas de transmisión de RAM.

A pesar de que esta investigación no fue diseñada como una evaluación cuantitativa, los resultados sirven como una base que confirma la presencia de bacterias multirresistentes (MDO) en la comida de venta ambulante y caracteriza sus genes de resistencia antimicrobiana. El estudio no está enfocado en cuantificar o reconocer patrones de resistencia, pues el tamaño de la muestra no permite que sea representativa, y por tanto no se pueden llegar a estos resultados. Se reconoce que las limitaciones de recursos que mantiene este estudio son el tipo de obstáculos que a menudo dificulta la investigación científica en la región. Sin embargo, el estudio proporciona evidencia e información esencial de manera preliminar, de la cual las futuras investigaciones pueden tomar base. La OMS recalca que incluso una base de información limitada sirve como un catalizador para la concientización, la investigación futura y eventualmente una política de acción (WHO, 2018).

OBJETIVOS

Objetivo general: Identificar genes de resistencia antimicrobiana presentes en especies bacterianas obtenidas a partir de comida callejera procedente del parque Inglés y el parque La Carolina, mediante análisis microbiológicos y moleculares, para la determinación de una posible fuente de propagación de bacterias multirresistentes.

Objetivos Específicos:

- Aislar bacterias presentes en comida callejera del parque Inglés y el parque la Carolina, mediante técnicas microbiológicas convencionales, para la determinación de microorganismos con potencial resistencia a antibióticos.
- 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.
- 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.

METODOLOGÍA

El estudio se realizó en tres fases: muestreo, análisis de laboratorio y análisis bioinformático. Esta división se puede observar en el diagrama de metodología (figura 7) al final de esta sección.

1. Fase de muestreo

1.1. Descripción de las localidades analizadas y sitios de muestreo

En el norte de la ciudad de Quito, se seleccionaron a dos parques para realizar un muestreo: el parque La Carolina y el parque Inglés. El parque La Carolina destaca por ser el más visitado de la ciudad, con alrededor de 150.000 personas que acuden a realizar actividades recreativas mensualmente (Tamayo, 2023). Además, la zona de venta de comida callejera es particularmente concurrida. La venta de comida de manera ambulante es cada vez más frecuente, a pesar de los esfuerzos del Municipio del Distrito Metropolitano de Quito por regular esta área y establecer puntos de venta oficiales de alimento (El Comercio, 2017). Por otro lado, el parque Inglés tiene una ubicación beneficiosa al estar rodeado de barrios urbanos como San Carlos, Andalucía y Flavio Alfaro; estimándose que el parque Inglés acoge 20.000 visitantes mensuales.vLa reciente rehabilitación de sus instalaciones, incluidas las canchas deportivas, ha contribuido a su popularidad (Quito Informa, 2023). Durante el muestreo, se observó la popularidad de los puestos de comida callejera cerca del área de actividades deportivas, mismas que atraen a los visitantes y participantes. Las figuras 3 y 4 presentan los mapas de cada parque con las marcas de georreferencia que indican los puntos de muestreo.

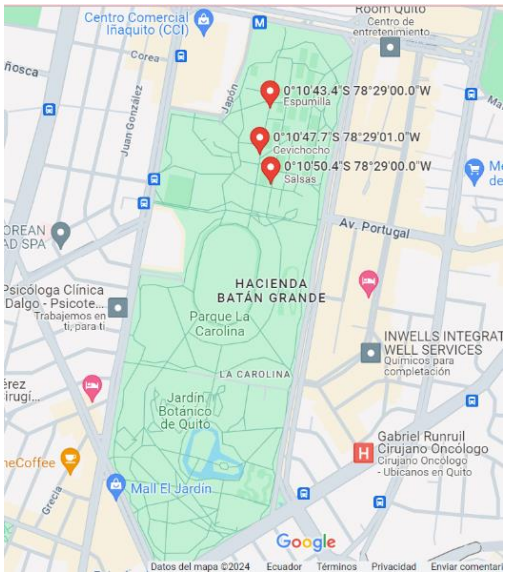


Figura 3. Puntos de georreferencia de toma de muestras en el parque La Carolina

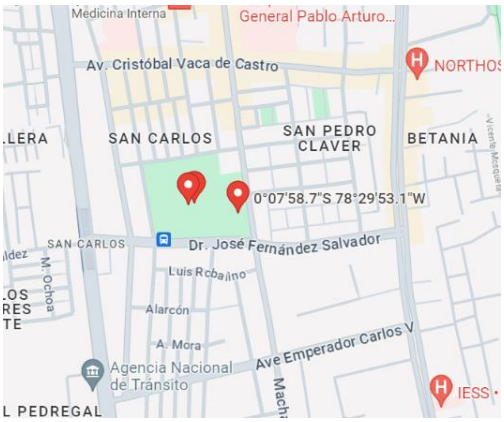


Figura 4. Puntos de georreferencia de toma de muestras en el parque Inglés

1.2. Metodología de muestreo

1.2.1. Selección del tipo de muestra

Las muestras alimenticias colectadas durante la fase de muestreo fueron seleccionadas con base en la frecuencia de su venta y su popularidad en los parques visitados; adicionalmente, se sustentó la selección de las muestras utilizando los escasos reportes que analizaron a esta problemática en Ecuador (Tubón et al., 2022; Zurita et al. 2020). En ambas localidades, se compraron los siguientes productos: espumilla,

cevichochos y salsas de ají. Se seleccionaron estos elementos con base en su composición y forma de comercialización.

1.2.2. Medio de recolección y transporte de muestras

El medio escogido para la recolección y transporte de las muestras de alimentos callejeros fue agua peptona tamponada, mismo que mantiene un pH estándar de 7,2. Los estudios de Alelign & Kidanewold, (2023); y Hendriksen et al., (2023), aplican una relación de 9 a 1 entre medio y muestra, de esta forma se obtienen resultados más específicos y sensibles. De acuerdo con Margot et al., (2015), el agua peptona favorece la recuperación de bacterias en relación a muestras de comida. De manera similar, Chauhan & Jindal (2020) sugieren el uso de agua peptonada para el análisis de muestras alimenticias, con una concentración del 0,1% p/v o v/v. Esto concuerda con lo establecido en la norma ISO 6887-1:2017 - Preparación de las muestras microbiológicas de alimentos y piensos, donde se recomienda uso de agua peptonada como medio de transporte por su alta capacidad de recuperación de la viabilidad bacteriana después de su transporte (International Organization for Standardization [ISO], 2017). De acuerdo con los protocolos, la norma establece una concentración de 9 mL de medio por cada mililitro de muestra, parámetro que se respetó durante todo el procedimiento. En este contexto, este medio ofrece un alto índice de recuperación celular, lo que lo hace óptimo para el enriquecimiento y recuperación de bacterias en muestras alimenticias.

1.2.3. Transporte y almacenamiento de muestras

Dentro del sitio de muestreo, se identificó los puestos de venta que ofrecían los alimentos seleccionados, por medio de un recorrido de la zona interna de los parques. En estos puestos se adquirieron los productos, para posteriormente homogeneizarlos e inocularlos en el medio de agua peptona. En este proceso, con la ayuda de pipetas Pasteur previamente esterilizadas se añadieron 10mL de la muestra en 90mL del medio, mismo que fue preparado en un envase estéril de plástico. A lo largo del muestreo, los envases con las muestras fueron etiquetados y almacenados dentro de una hielera a 0°C; esta

temperatura fue supervisada de forma constante con el fin de asegurar el almacenamiento de las muestras a 0°C hasta el procesamiento en laboratorio. Para cada punto de recolección, se recopilaron los datos de georreferencia (sector, lugar y hora de recolección) y el tipo de muestra junto con sus observaciones. El código asignado es específico de cada muestra, y detalla sus características como sector, parque, tipo de alimento y su número. A continuación, en la tabla 2 se detallan los códigos asignados para cada muestra que resultó resistente.

Tabla 2. Códigos de identificación de muestras y colonias bacterianas resistentes

	Código	*Parque*	*Comida*	*Estado*	*Muestra*	*Colonia*
1	QN-CAR-SAL-L-001-C	La Carolina	Salsa	Líquido	1	C
2	QN-ING-CEV-L-004-D	Inglés	Cevichocho	Líquido	4	D
3	QN-ING-CEV-L-004-F	Inglés	Cevichocho	Líquido	4	F
4	QN-ING-ESP-L-005-D	Inglés	Espumilla	Líquido	5	D
5	QN-ING-ESP-L-005-I	Inglés	Espumilla	Líquido	5	I

2. Fase Analítica *Wet Lab*

2.1. Fase de análisis microbiológico

2.1.1. Preparación de medios selectivos y diferenciales

Se prepararon medios selectivos y comerciales para la siembra de las muestras de alimentos, de esta forma se permite seleccionar únicamente aquellas bacterias que son de interés en el contexto de la resistencia antimicrobiana. En este caso, se utilizó el medio agar

sangre al 5% enriquecido con colistina (100 µg/mL) para el cultivo de bacterias Gram positivas; este medio de cultivo también permitió el cultivo de bacterias Gram negativas resistentes a la colistina (Collalto et al., 2023; Egwuatu et al., 2014). Adicionalmente, el medio de cultivo en agar MacConkey enriquecido con cefepima (100 µg/mL) fue empleado para el aislamiento de bacterias Enterobacterales, específicamente aquellas con resistencias a antibióticos betalactámicos (Landers et al., 2017). Por último, se utilizó el medio XLD para el favorecimiento del crecimiento enterobacterias, que pueden crecer en el medio rico en sal (Mishra & Agrawal, 2012).

2.1.2. Siembra de las muestras y condiciones de cultivo

Se sembraron las muestras en los medios de cultivo selectivos descritos anteriormente. Primeramente, las muestras se homogeneizaron utilizando un vórtex, seguidamente se sembró utilizando la técnica de extensión y el asa de Digralsky. El mechero Bunsen se utilizó para crear una zona de trabajo aséptica (Chauhan & Jindal, 2020). Las muestras se cultivaron por duplicado en cada medio de cultivo (Agar XLD, agar sangre y agar MacConkey), en donde se inocularon 100 µL de muestra en dilución 1 en 10. Seguidamente, los cultivos sembrados en las cajas Petri fueron incubadas por 72 horas a 35°C (Ransom et al., 2021). Por último, se analizó el crecimiento en los cultivos y se recolectaron los datos obtenidos. Con la finalidad de obtener cultivos bacterianos puros, las colonias del cultivo inicial se aislaron en agar sangre 5% y agar MacConkey. Esta siembra se realizó con la ayuda de un asa de inoculación y utilizando la técnica de estriado. En cambio, en el agar XLD se evidenciaba una proliferación bacteriana diversa, sin la obtención de colonias asiladas, por este motivo, se realizó un barrido que fue resembrado con técnica de agotamiento. Adicionalmente, al nuevo cultivo se le añadió un disco de antibiograma de meropenem entre el primer y segundo arrastre. En este caso, aquellas colonias que crecieron dentro del halo o de manera adjunta al disco se consideraron resistentes; como resultado, estas colonias se aislaron para obtener cultivos axénicos (Gülen et al., 2021).

2.1.3. Recuento de colonias

Adicionalmente, en las placas originales, se contó el total de UFC de las colonias morfológicamente distintas. Con base en el resultado, se calculó el total de UFC en cada muestra tomando en cuenta que la dilución inicial es de 1 en 10. Asimismo, aquellas placas que mantenían una concentración de bacterias incontables en placa se diluyeron en concentraciones 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, y 10^{-5}; posteriormente fueron sembradas nuevamente con el fin de realizar un conteo acertado (Heuser et al., 2023).

2.1.4. Selección de colonias de interés

Una vez obtenidos cultivos aislados, se buscaron características fenotípicas de interés de aquellas bacterias que mostraban características morfológicas de bacterias clínicamente relevantes y que comúnmente poseen genes de resistencia; estas son aquellas descritas por Procop et al. (2017) en el libro Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, en sus tablas 17-4 en el capítulo 17 sobre resistencia antimicrobiana. Asimismo, las características fenotípicas para cada bacteria de interés se compararon con la tabla 1-13 y 6-1 para agar MacConkey. Por otro lado, en los cultivos de resiembra, las colonias que crecen dentro del halo inhibitorio se catalogaron como colonias de interés a causa de su resistencia. En cambio, se buscó en el agar sangre a colonias cuyas características fenotípicas correspondían a bacilos negativos, pues son de interés en cuanto al crecimiento en agar sangre con colistina; antibiótico que es de espectro reducido y efectivo únicamente contra bacterias Gram negativas. En otras palabras, aquellos bacilos negativos que crecen en el medio de agar sangre con colistina, presentan una resistencia a este antibiótico (Ghaffar et al., 2023). Adicionalmente, se buscaron otros indicativos de bacterias patógenas como lo es la hemolisis, que aborda tanto Gram negativos como *Pseudomonas aeruginosa* y Gram positivos como *Staphylococcus aureus* (Ledeboer et al., 2015).

2.1.5. Realización de pruebas de identificación bioquímicas

Una vez obtenidos los cultivos puros de las colonias de interés, se realizó una identificación por pruebas bioquímicas, en la cual se inocularon las muestras en los medios citrato (CIT), lisina (LIA), urea, Sulfito Indol Motilidad (SIM), Rojo de Metilo y Voges Proskauer (RM-VP). Otras pruebas de identificación realizadas fueron tinción Gram, catalasa, y oxidasa. Las pruebas permitieron caracterizar el metabolismo y reacciones bioquímicas propias de cada microorganismo, por lo que son una herramienta práctica para la identificación bacteriana. En este sentido, las baterías bioquímicas permiten dar identidad al microorganismo en cuestión al utilizar los principios metabólicos de cada bacteria al ser expuesta a distintos ambientes (Chauhan & Jindal, 2020). Las galerías bioquímicas, proveen resultados tanto positivos como negativos a cada prueba, y los resultados de cada prueba son comparados con referencias bibliográficas de microbiología clínica, como el libro de microbiología *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology* en las tablas 6-7 y 7-3 (Procop et al., 2017).

El flujograma de identificación bacteriana (Figura 5) es una representación del algoritmo adaptado del libro Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology (Procop et al., 2017). Se inició con la tinción de Gram para diferenciar entre Gram positivas y Gram negativas. Para las bacterias Gram negativas, se realizó la prueba de oxidasa para diferenciar entre fermentadores (oxidasa negativa) y no fermentadores (oxidasa positiva). En el caso de los no fermentadores, debido a limitaciones de recursos, no se realizaron las pruebas bioquímicas específicas que recomienda el libro, y la identificación final se confirmó mediante secuenciación genética. Para los fermentadores, se utilizaron los medios bioquímicos que se encontraban disponibles, siguiendo los protocolos descritos en el libro. Sin embargo, en algunos casos, las pruebas bioquímicas no fueron concluyentes.

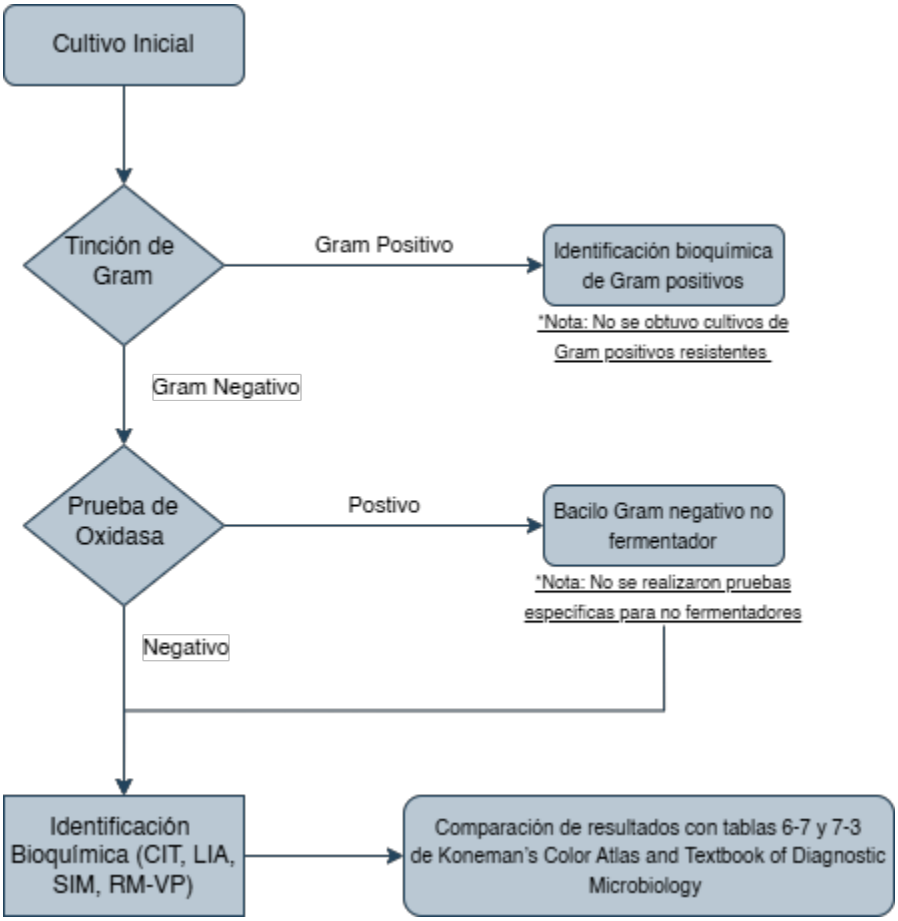


Figura 5. Algoritmo adaptado de identificación bioquímica del libro Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology (Procop et al., 2017).

2.1.6. Pruebas de susceptibilidad a antibióticos

Se realizaron antibiogramas para evaluar la resistencia de las muestras bacterianas. Para ello, se tomó como referencia al manual del CLSI M100 en su trigésima cuarta edición M100 (Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI], 2024), en donde se encuentran protocolos detallados para llevar a cabo pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos. De esta manera se garantizan resultados confiables y certeros referente a susceptibilidad microbiana (Humphries et al., 2021). Siguiendo los lineamientos del manual, se prepararon los inóculos usando la escala McFarland, que indica la concentración adecuada de bacterias. En este caso, se estipula que la turbidez de la muestra debe ser equivalente a 0,5

de la escala estándar de McFarland (CLSI, 2024). Los discos de antibióticos aplicados se colocaron en un orden específico que permitió evaluar la sinergia entre los antibióticos, utilizando como base a la prueba de sinergia de doble disco (DDST) descrita en el CLSI en la tabla 3A para la detección de betalactamasas de manera fenotípica. Esta distribución se explica de manera gráfica en la figura 6. Específicamente, la prueba de sinergia realizada hace referencia al método de Jarlier para la determinación fenotípica de resistencia con betalactamasas; que permite la determinación de sinergias entre antibióticos betalactámicos e inhibidores de betalactamasa. Mediante el mismo, se logra la identificación fenotípica de betalactamasas (Gill, Usman, Hassan, Kaleem, & Anjum, 2015; Gill, Usman, Hassan, Kaleem, & Shaheen, 2015). Por este motivo, los antibióticos seleccionados son: amoxicilina + ácido clavulánico, cefoxitina, cefepime, meropenem, imipenem. El disco de amoxicilina con ácido clavulánico permite evaluar el nivel de susceptibilidad de las cepas aisladas frente al grupo de penicilinas; adicionalmente este disco se coloca en la mitad del medio debido a su factor de inhibición de betalactamasas. En este sentido, el ácido clavulánico es el que indica la presencia de betalactamasas al demostrar sinergias con otros antibióticos; esto puede ser identificado mediante la forma ovalada o extendida de los halos hacia el disco de AMC. En este caso, lo que se evidencia es la inhibición de la betalactamasa, por lo que, el halo del antibiótico betalactámico, puede incrementar su tamaño en la parte que se encuentra más cercana al disco inhibitorio.

Adicionalmente, el disco de cefoxitina determinó resistencia a cefalosporinas de 3era generación; en conjunto, ambos antibióticos ayudan a determinar el perfil de resistencia tipo AmpC. Por otra parte, el disco de cefepime pone a prueba la susceptibilidad de la bacteria frente a cefalosporinas de 4ta generación. Por último, los antibióticos meropenem e imipenem ayudan a identificar resistencias a carbapenémicos (Jarlier et al., 1988; Lezameta et al., 2010). Estos 5 discos fueron ubicados en placas de 90mm del medio agar Mueller-Hinton, con 24 mm de distancia entre cada uno para un correcto análisis de los halos de inhibición. Una vez incubadas entre 16 y 18 horas a 35°C, los halos fueron medidos y comparados con tablas 2A y 2C del manual. El contenido de las tablas indica las mediciones de diámetro estándar de las zonas de inhibición y concentraciones mínimas

de inhibición para clasificar a una bacteria como resistente o sensible. Por medio de los antibiogramas, se logró determinar de manera cualitativa aquellas bacterias que poseían resistencias a antibióticos (CLSI, 2024).

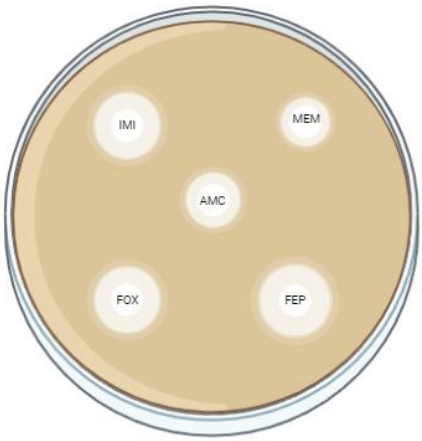


Figura 6. Distribución de discos de antibiogrma con método de Jarlier. IMI – Imipenem; MEM – Meropenem, AMC- Amoxicilina + ácido clavulánico; FOX – Cefoxitina; FEP – Cefepime

Con el fin de evaluar la susceptibilidad de las muestras seleccionadas frente a la colistina, se llevó a cabo una prueba de concentración inhibitoria mínima (MIC). Para ello, se tomó como referencia los protocolos estipulados dentro del CLSI, acerca de la preparación de dilución en placa en medio de cultivo sólido. En primer lugar, se prepararon placas de medio sólido de agar Mueller-Hinton, adicionando en cada una diferentes concentraciones de colistina: 0.5, 1, 2, 4, 6, y 8 ug/mL. De acuerdo al manual del CLSI, la concentración inhibitoria mínima de colistina para enterobacterales y pseudomonas es de 4 ug/mL y la resistencia intermedia es de 2 ug/mL, en este sentido, el manual en la tabla 3E, indica realizar los medios tomando estos datos como base. Estos valores indican que un crecimiento en las placas de 4, 6 y 8 ug/mL significa resistencia al antibiótico. Para realizar la prueba en agar se aplicaron 10 ul de solución bacteriana 0,5 McFarland en cada placa de diferente concentración; el inóculo no debe ser extendido alrededor de la placa. Las placas se incubaron por 24 horas a 37°C. Finalmente, de manera semicuantitativa y

basándose en el crecimiento, se determina la concentración inhibitoria mínima (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2024; Goyal et al., 2023).

2.2. Fase molecular

2.2.1. Enriquecimiento

Previo a la extracción de ADN, se debe realizar un cultivo de gran concentración. Esto con el fin de obtener una mayor cantidad de bacterias, y por tanto, una mayor concentración de ADN final. El enriquecimiento se realizó en medio BHI, para de esta manera garantizar el crecimiento óptimo. Adicionalmente, se requiere que se trate de un cultivo fresco, por lo que los cultivos se cosecharon entre las 24 y 48 horas posteriores a su inicio, previo a la extracción (Ding et al., 2017).

2.2.2. Extracción de ADN bacteriano y Análisis de Calidad

Para la extracción del ADN se utilizó el kit de Qiagen “QIAamp DNA Mini Kit”. Se siguió el protocolo descrito por el fabricante que se basa en métodos de extracción por columnas y membranas de sílice. Los resultados de dicha extracción se corroboraron por medio de una electroforesis en gel de agarosa al 2% con el fin de corroborar la calidad del ADN extraído (Lee et al., 2022). Adicionalmente, se cuantificó el ADN para asegurar una buena concentración del material. Este proceso fue llevado a cabo por medio del fluorómetro Thermo-Fisher Qubit 2.0 y su kit comercial de calibración y cuantificación Qubit dsDNA BR Assay.

2.2.3. Secuenciación

Por último, el material genético extraído fue secuenciado con técnicas de NGS. El genoma fue secuenciado por medio de la tecnología de Illumina MiSeq. Este proceso fue llevado a cabo por parte de la empresa BioSequence; que mantiene un flujo de trabajo basado en el análisis de calidad del material genético, seguido de la preparación de librerías, y por último, la secuenciación (BioSequence, 2024).

3. Fase *Dry Lab*

3.1. Análisis Bioinformático

Los archivos resultantes de secuenciación, FASTQ, fueron cargados a la plataforma de Galaxy (Abueg et al., 2024), en la cual se realizó un análisis de calidad de la secuenciación. Posteriormente, se procedió a realizar un trimado para eliminar las secuencias de mala calidad, utilizando la herramienta Trimmomatic (Bolger et al., 2024). Seguidamente, se realizó un ensamblaje de novo utilizando SPAdes (Prjibelski et al., 2020), y como resultado se obtienen las secuencias del genoma completo de la muestra en formato FASTA. Por último, los resultados se evaluaron en Quast (Gurevich et al., 2013) para comprobar una calidad de ensamblaje adecuada. Con el fin de analizar las proteínas presentes en la secuencia y su función, se utilizó la herramienta Prokka (Seemann, 2014) y ABRicate (Seemann, 2016), usando CARD (Jia et al., 2016) y Resfinder (Zankari et al., 2012) como bases de datos; disponibles en la plataforma de Galaxy (Berwa & Caspar, 2024). Los resultados fueron organizados y filtrados por medio de programación en R. Posteriormente se evaluaron los genes uno por uno para seleccionar únicamente aquellos que corresponden a resistencias antimicrobianas o virulencia bacteriana; esto se realizó utilizando la herramienta de UniProt (The UniProt Consortium, 2024).

Para determinar con certeza la naturaleza genómica de las resistencias, se realizó un análisis bioinformático utilizando el pipeline de Roary (Page et al., 2015); herramienta bioinformática que compara genomas e identifica genes centrales (intrínsecos) y accesorios (adquiridos) de las muestras. Por parte de la determinación de clonalidad, se realizaron dos metodologías de tipificación con alta capacidad de identificación de relación génica (Simar et al., 2021). En primer lugar, se evaluaron los genes constitutivos estándar para la identificación de secuencias de múltiples locus en *Enterobacter cloacae* (*dnaA*, *fusA*, *gryB*, *leuS*, *pyrG*, *rplB*, *rpoB*) (Miyoshi-Akiyama et al., 2013). Se tomó como base a este microorganismo al tener caracterización en la base de datos de MLST, misma que *E.ludwigii* no la tiene. La selección de este microorganismo se basa en su proximidad con

Enterobacter ludwigii, pues forman parte del complejo de *Enterobacter cloacae* (ECC) y comparten una alta similitud genética. El análisis se realizó en la herramienta MLST disponible en Galaxy (Seeman, 2025). La herramienta de FastANI (Jain et al., 2018) permitió el alineamiento comparativo en el cual se obtiene un índice porcentual de identidad nucleótida promedio. Un porcentaje mayor a 95% indica bacterias de la misma especie, mientras que un valor superior al 99% indica clonas genéticas (Busch et al., 2020; Konstantinidis & DeLong, 2008). Por otro lado, se realizó un análisis filogenético con base en SNPs con el fin de confirmar la clonalidad bacteriana entre estas muestras. Para ello se utilizaron las siguientes herramientas: Snippy para identificación de SNPs en comparación a un genoma de referencia (Seeman, 2015), Snippy-Core para la unión de los archivos (Seeman, 2015), y IQ-TREE para la construcción del árbol filogenético (Minh et al., 2020). El genoma de referencia usado fue descargado de la base de datos del NCBI, con el código de acceso GCF_001750725.1_ASM175072v1.

A continuación, la figura 7 resume de manera gráfica la metodología aplicada

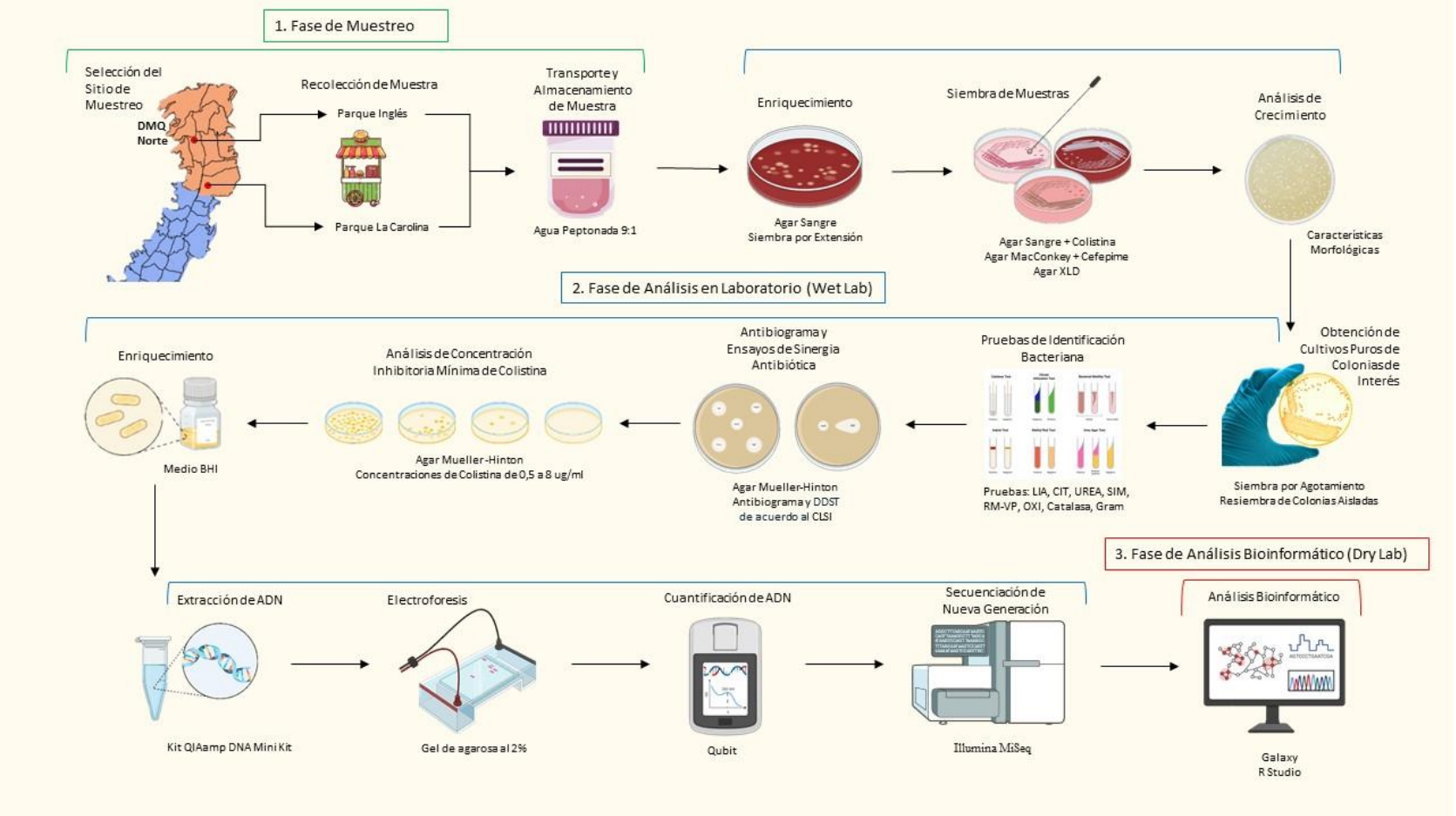


Figura 7. Metodología para aislamiento y análisis de muestras bacterianas resistentes a antibióticos

RESULTADOS

En cuanto al primer cultivo bacteriano, se evidenció un crecimiento en el 83,33% de las placas de agar. A nivel general, las placas que no tuvieron crecimiento son aquellas de agar MacConkey con cefepime, en las cuales el 50% no obtuvieron resultados positivos. Por parte del agar XLD y agar sangre, todas las muestras presentaron crecimiento de distintas colonias bacterianas. Los cultivos mostraron una variedad de colonias en cada placa de agar sangre, que en promedio tenían tres colonias morfológicamente distintas. Adicionalmente, el recuento demostró un promedio de 326 U.F.C/mL en referencia a mesófilos aerobios, los datos por muestra son expuestos en la figura 8. En cambio, en los cultivos en XLD se observó en su mayoría, un crecimiento sin colonias aisladas. Por este motivo, las colonias se volvieron a aislar en agar MacConkey junto con un disco de antibiograma a de meropenem. Posterior a la realización del análisis morfológico de las colonias cultivadas en agar sangre, se seleccionaron aquellas bacterias que presentaban las características morfológicas de interés; se seleccionaron doce colonias. De los cinco cultivos re-aislados, en tres se observó un crecimiento de colonias aisladas dentro del halo de inhibición. En total se seleccionaron 15 cultivos de interés para ser procesados.

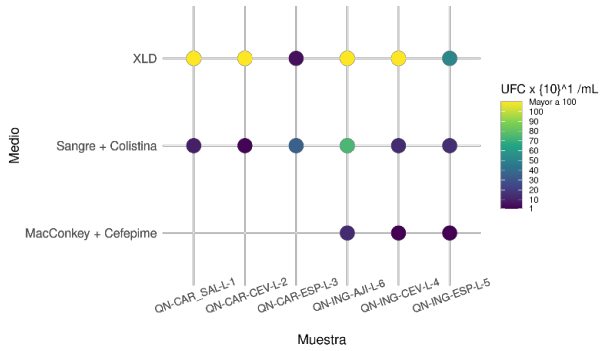


Figura 8. Recuento de colonias bacterianas en medios XLD, MacConkey + Cefepime, Agar Sangre + Colistina

Las tinciones de Gram revelaron que, de las 15 muestras de interés, 5 eran levaduras; de las cuales cuatro provenían de colonias que crecieron en agar MacConkey con cefepime. A estas 4 muestras se sumó una colonia adicional que también resultó ser levadura y que había crecido en una placa de agar sangre. Por lo tanto, todas las muestras

que crecieron en agar MacConkey con cefepime fueron descartadas debido a que se trataban de levaduras. Adicionalmente, dos muestras que inicialmente demostraron características de interés, resultaron ser cocos Gram positivos; y por tanto no demostraban resistencia a colistina. Después de las tinciones, se seleccionaron 8 colonias de distintas muestras para ser procesadas. No obstante, una de las colonias que inicialmente creció en agar sangre no tuvo los resultados esperados con relación al crecimiento en agar MacConkey y, a pesar de ser Gram negativa, fue descartada al no cumplir con las características de organismos de interés.

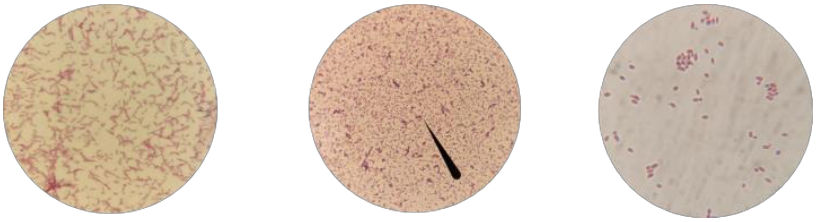


Figura 9. Tinciones Gram. A la izquierda el resultado de Gram negativos, en el centro Gram positivos, y en la derecha levaduras

Tabla 3. Selección de muestras a partir de tinción Gram y características microscópicas

Muestra	*Tinción*	*Criterio de Selección*	*Procesamiento*
QN-CAR_SAL-L-1-C	Bacilos negativos	No se procesan las muestras que resultaron levaduras No se procesan las muestras que se sospechaba eran resistentes a colistina y resultaron ser Gram positivos No se procesan muestras que no crecen en agar MacConkey	Sí
QN-CAR_SAL-L-1-D	Bacilos negativos		Sí
QN-CAR-ESP-L-3-A	Levaduras		No
QN-ING-CEV-L-4-D	Bacilos negativos		Sí
QN-ING-CEV-L-4-F	Bacilos negativos		Sí
QN-ING-CEV-L-4-E	Levaduras		No
QN-ING-ESP-L-5-D	Bacilos negativos		Sí
QN-ING-ESP-L-5-H	Levaduras		No
QN-ING-ESP-L-5-I	Bacilos negativos		Sí
QN-ING-AJI-L-6-A	Cocos Positivos		No
QN-ING-AJI-L-6-C	Bacilos negativos		No
QN-ING-AJI-L-6-D	Cocos Positivos		No
QN-ING-AJI-L-6-E	Levaduras		No
QN-ING-AJI-L-6-F	Levaduras		No
QN-ING-AJI-L-6-G	Bacilos negativos		Sí

Una vez seleccionadas, las 7 colonias de interés se realizaron pruebas de antibiograma. Se descartaron 2 muestras que demostraron sensibilidad a la mayoría de los

antibióticos. De las 5 cepas restantes, 3 demostraron resistencia tanto a cefoxitina y amoxicilina + ácido clavulánico; mientras que una de las cepas bacterianas mostró resistencia a todos los antibióticos y la otra cepa restante fue sensible únicamente a meropenem. Adicionalmente, una de las muestras demostró positividad en la prueba de sinergia de doble disco. Se complementó a las pruebas de susceptibilidad con un análisis de la concentración inhibitoria mínima de la colistina. Al sembrar las bacterias en concentraciones de 0.5, 1, 2, 4, 6 y 8 µg/mL, se evidenció que 4 de las 5 bacterias evaluadas mantenían una resistencia a la colistina. La colonia sobrante es aquella que presenta múltiples resistencias en antibiograma. Con base en esta información, se seleccionaron las 5 cepas para análisis por secuenciación. La figura 10 y 11 a continuación demuestran las resistencias encontradas en cada cepa, tanto en antibiogramas como en análisis de MIC; mientras que la tabla 4 expone las mediciones de los halos de inhibición en comparación al mínimo establecido por el CLSI.

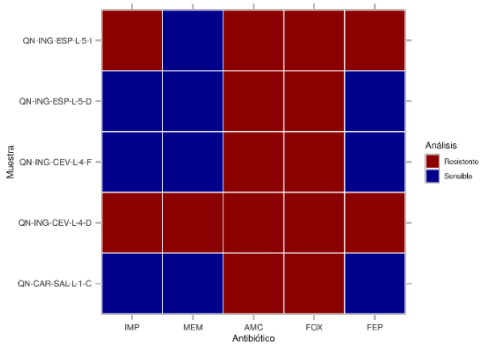


Figura 10. Heatmap de sensibilidad y resistencia en antibiogramas

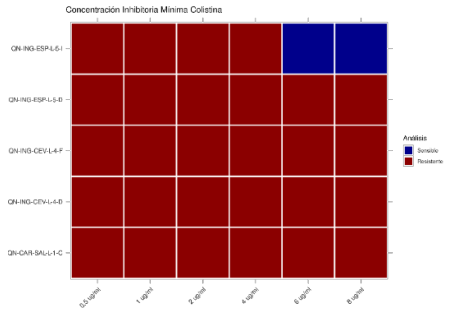


Figura 11. Heatmap de sensibilidad y resistencia en análisis de concentración inhibitoria mínima de colistina

Tabla 4. Medición de diámetros en milímetros de pruebas de susceptibilidad a antibióticos. S - susceptible; R - resistente

Muestra	*IMP*		*MEM*		*AMC*		*FOX*		*FEP*	
QN-CAR-SAL-L-1-C	27 mm	S	34 mm	S	8 mm	R	11 mm	R	33 mm	S
QN-ING-CEV-L-4-D	8 mm	R	15 mm	R	6 mm	R	8 mm	R	14 mm	R
QN-ING-CEV-L-4-F	26 mm	S	30 mm	S	9 mm	R	10 mm	R	32 mm	S
QN-ING-ESP-L-5-D	28 mm	S	30 mm	S	6 mm	R	7 mm	R	30 mm	S
QN-ING-ESP-L-5-I	18 mm	R	22 mm	S	6 mm	R	6 mm	R	15 mm	R

Adicionalmente, se realizaron baterías bioquímicas con el fin de conocer las identidades posibles de la bacteria. Los resultados son mostrados en la tabla 4 a continuación. Para las 5 bacterias se seleccionaron 2 identidades que coinciden con los resultados de identificación fenotípica. Tanto para la muestra de salsas de la Carolina, como para las muestras de cevichocho y espumilla del parque Inglés se presume que la bacteria podría tratarse de *Enterobacter aerogenes*, o *Serratia marcescens*. Estas identidades coinciden con el patrón de coloración y crecimiento en el agar MacConkey, pues *Serratia* es un bacilo Gram negativo no fermentador, y por tanto demuestra un medio de color amarillento y colonias beige. Por otro lado, *Enterobacter* spp. es un fermentador lento de lactosa, por lo que inicialmente, demuestra colonias incoloras, que después de 48 horas empiezan a mostrar su coloración rosa claro; es importante esperar más de 72h para descartar la posibilidad de un fermentador lento (Mazumder et al., 2022). Sin embargo, en comparación con el BLAST de la secuencia de dichas muestras, se observa que las identidades seleccionadas no coinciden, pues se identifica a la bacteria como *Enterobacter ludwigii*. Esto se debe principalmente a que esta bacteria resultante no se encuentra detallada dentro de las tablas en la literatura de Koneman; aunque los autores sugieren que tanto *Enterobacter aerogenes*, y *Enterobacter ludwigii* son muy similares entre sí y acostumbran a ser confundidas con otras especies de *Enterobacter* (Procop et al., 2017). En este sentido se hace referencia al complejo *Enterobacter cloacae* (ECC), que trata de un conjunto de clados filogenéticos en el cual se agrupan subespecies de *Enterobacter* filogenéticamente similares, y que por tanto, mantienen patrones de resistencia, virulencia y tropismos infecciosos estrechamente conectados (Godmer et al., 2021). Es por este

motivo, que se consultó en el artículo de Hoffmann et al., (2005) y Zhang et al., (2018), en donde se detallan los resultados de baterías bioquímicas y las pruebas clave que sustentan la identificación eficaz de este grupo bacteriano. En referente a los resultados se evidencia una concordancia entre los resultados bioquímicos obtenidos en comparación con los resultados de Zhang et al., (2018). Asimiso, Hoffmann et al., (2005), sugiere la realización de las pruebas de myo-inositol, 3-0-metil-d-glucopiranosa para la correcta diferenciación de esta bacteria en comparación con otras bacterias del ECC; mismas que no se realizaron debido a la disponibilidad de recursos.

La otra colonia de cevichocho del parque inglés coincide parcialmente con los perfiles bioquímicos de *Serratia marcescens bio group 1 o Serratia plymuthica.* Además, las identidades probables demuestran coincidencias fenotípicas con las características de las colonias observadas en MacConkey; correspondientes a bacterias que no fermentan lactosa. Sin embargo, en comparación con la identidad bacteriana resultante del BLAST de secuencia, estas identidades no concuerdan. La bacteria identificada por medio de análisis de secuenciación es *Stenotrophomonas maltophilia*. Esta no se trata de un Enterobacteral, sino pertenece a la familia Xanthomonadaceae y la identificación bioquímica debe ser orientada a pruebas bioquímicas específicas para bacilos Gram negativos no fermentadores. La prueba de oxidasa es el examen rutinario para diferenciar entre estos grupos: los no fermentadores frecuentemente son oxidasa positivos; y los Enterobacterales suelen ser oxidasa negativos (Parmeland et al., 2021). No obstante, el libro Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology (Procop et al., 2017) especifica que *S.maltophilia* se trata de una oxidasa negativa, en consecuencia su identificación resultó particularmente difícil. En vista del resultado negativo, se realizó una identificación con pruebas bioquímicas enfocadas hacia Enterobacterales; y es por este motivo que la identidad bacteriana resultante entre baterías bioquímicas y la secuenciación tuvo una diferencia significativa. Sin embargo, en comparación con fuentes bibliográficas, se puede observar una coincidencia de 7 de los 11 resultados bioquímicos.

Por parte de la segunda colonia que creció de la espumilla del parque Inglés, a partir de los resultados de oxidasa positivo, se determina que es una bacilo Gram negativo de tipo no fermentativa; esta característica coincide con las características fenotípicas del cultivo de estas en MacConkey (Jung & Hoilat, 2024). Sin embargo, por temas de disponibilidad de recursos, se realizaron las mismas pruebas aplicadas a las anteriores muestras, por lo que las pruebas no fueron apropiadas o suficientes para identificar una bacteria de este grupo con certeza. No obstante, los resultados de BLAST de secuenciación revelan que la identidad bacteriana se trata de *Pseudomonas fluorenscens*. Revisando la literatura publicada sobre su caracterización bioquímica, se determina que la bacteria mantiene una alta variabilidad metabólica, y mantiene una falta de patrones establecidos para su correcta identificación por métodos bioquímicos. Por este motivo, es fácil su confusión con otras bacterias del género Gammaproteobacteria. A pesar de ello, se consultó bibliografía externa en la cual se observa que los resultados de citrato, oxidasa, catalasa y Voges-Proskauer, coinciden con lo indicado con (Nepali et al., 2018; Tasić & Janjić, 2022; Tohya et al., 2022); mientras que lisina, motilidad y rojo metilo no. A continuación, se puede observar en la tabla 5, las pruebas bioquímicas realizadas y su comparación con la bacteria identificada con secuenciación.

Tabla 5. Resultados de pruebas bioquímicas por muestra en comparación a resultados previamente reportados

Muestra / Identidad Bacteriana	**Resultados Bioquímicos**											**Referencia**
	Oxidasa	**Catalasa**	**Lisina Descarboxilasa**		**Citrato de simmons**	**Urea**	**Sulfito indol motilidad**			**Rojo Metilo**	**Voges-Proskauer**	
			LIA	**GAS**			**H2S**	**IND**	**MOT**			
QN-CAR-SAL-L-1-C	-	+	-		+	-	-	-	+	+	+	
Enterobacter ludwigii	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	(Hoffmann et al., 2005)
QN-ING-CEV-L-4-D	-	+	+		-	-	-	-	-	+	+	
Stenotrophomonas maltophilia	+	+	+		-	-	-	-	+	-	-	(Adegoke, et al., 2017)
QN-ING-CEV-L-4-F	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	

Enterobacter ludwigii	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	(Hoffmann et al., 2005)
QN-ING-ESP-L-5-D	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	
Enterobacter ludwigii	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	(Hoffmann et al., 2005)
QN-ING-ESP-L-5-I	+	+	+		+	-	-	-	-	+	-	
Pseudomonas fluorescens	+	+	-		+	-	-	-	+	-	-	(Tohya et al., 2022)

En referente a la extracción de ADN, esta fue realizada con éxito, obteniendo una buena concentración de las 5 muestras. La concentración más baja fue de 190 ng/mL; mientras que la más alta fue de 418 ng/mL. A continuación, la tabla 6 presenta las concentraciones resultado de las muestras extraídas. La calidad y condición de las muestras se comprobaron por medio de electroforesis. Las muestras demostraron bandas claras y definidas. Adicionalmente, se observó que todas las bandas recorrieron la misma distancia; y se estima que el contenido total de ADN se encuentra por encima del ladder utilizado de 1Kb. En general, se evidenció una extracción efectiva con las condiciones apropiadas para la secuenciación.

Tabla 6. Resultados de concentración de ADN por muestra

Muestra	*Concentración de ADN (ng/ul)*
QN-CAR-SAL-L-1C	197
QN-ING-CEV-L-4D	418
QN-ING-CEV-L-4F	190
QN-ING-ESP-L-5D	244
QN-ING-ESP-L-5I	370

Todos los archivos de secuenciación FASTQ obtuvieron una calidad promedio inicial superior a 30 en PHRED Score. Una vez realizado el trimaje, la calidad superó dicho puntaje, indicando una excelente calidad. Asimismo, el ensamblaje de *novo* que fue utilizado para la obtención de secuencias de genoma completo obtuvo una calidad de

ensamblaje alta. Respecto a la anotación funcional, se encontraron alrededor de 4000 a 5000 genes por muestra, de los cuales, aproximadamente 116 correspondían directamente a genes de resistencia antimicrobiana. Las identidades bacterianas que se confirmaron por medio de BLAST (Altschul et al., 1990), estas son: *Pseudomona fluorenscens*, *Stenotrophomona maltophilia*, y *Enterobacter ludwigii*. Esta última se destaca como una bacteria presente en ambos parques; encontrándose en diferentes sitios de muestreo y comida variada.

En general, se encontraron genes de resistencia correspondientes a los cuatro mecanismos de RAM. Los genes de resistencia múltiple se tratan principalmente de sistemas de eflujo que expulsan múltiples antibióticos fuera de la célula; como lo son *AcrAB-TolC*; *oqxAB*; *mexAB-OprM*; *EmrAB-TolC*; *MdtABC*; y otros que se encuentran detallados en la tabla 7, en conjunto con los múltiples antibióticos que expulsan. Asimismo, se encontraron resistencias mediadas por porinas que impiden la entrada de antibióticos al microorganismo, tal es el caso de las porinas *OprD* y *OprM*, conocidos como uno de los principales mecanismos de resistencia a carbapenémicos en pseudomonas (Silverio et al., 2022). Las modificaciones de sitios diana se enfocan principalmente en genes de resistencia a colistina, como es el caso de la modificación del lípido A, y también los genes tipo PBP que alteran el sitio de unión de las penicilinas. Por último, se encontraron enzimas que inactivan antibióticos, tales como los genes tipo *bla*, *blaI*, *blh*, *ampC,* $_{bla}$*ACT-12* y la L1-betalactamasa. La figura 13 demuestra todos los genes de resistencia antimicrobiana encontrados en las muestras; mientras que la figura 12 destaca aquellos que son más relevantes para el contexto de RAM en comida callejera del DMQ norte.

Figura 12. Genes de resistencia con mayor relevancia por muestra

Tabla 7. Sistemas de eflujo y los antibióticos que expulsan

Sistema de eflujo	**Antibióticos**	**Referencia**
AcrAB-TolC	Ciprofloxacino, ácido nalidíxico, cloranfenicol, tetraciclina, novobiocina, fusídico, aztreonam, ceftazidima, cefotaxima, eritromicina, amoxicilina, ceftriaxona, ampicilina, acriflavina, tobramicina, colistina.	(Yamasaki et al., 2023)
AcrEF-TolC	Eritromicina, novobiocina, tetraciclina, cloranfenicol, ácido nalidíxico, norfloxacino.	(Yamasaki et al., 2023)
oqxAB	quinoxalinas, quinolonas, tigeciclina, nitrofurantoína, cloranfenicol, sulfametoxazol	(Li et al., 2019)
MexAB-OprM	Quinolonas, macrólidos, tetraciclinas, lincomicina, cloranfenicol, novobiocina, sulfonamidas, trimetoprima, β-lactámicos (excepto imipenem).	(Yamasaki et al., 2023)
mfdA	Cloranfenicol, doxorrubicina, norfloxacino, tetraciclina	(Huang et al., 2022)
SmeABC	Quinolonas, tetraciclinas, cloranfenicol, eritromicina, aminoglucósidos, β-lactámicos	(Adegoke et al., 2017)
SmeDEF	Quinolonas, tetraciclinas, cloranfenicol, eritromicina, aminoglucósidos, β-lactámicos	(Adegoke et al., 2017)
EmrAB-TolC	Macrólidos, quinolonas, cloranfenicol, colistina y otras polimixinas	(Zack et al., 2024)
MdtABC	Oxacilina, cloxacilina, fafcilina, novobiocina, desoxicolato, β-lactámicos	(Yamasaki et al., 2023)
MdtK	Acriflavina, doxorrubicina, norfloxacino, ciprofloxacino, estreptomicina, ácido fusídico	(Bay et al., 2017)
MacAB	Macrólidos, protoporfirina, rifampicina	(Zack et al., 2024)
TtgABC	Ampicilina, carbenicilina, tetraciclina, ácido nalidíxico y cloranfenicol	(Terán et al., 2003)
YbhFSR	Tetraciclinas	(Feng et al., 2020)

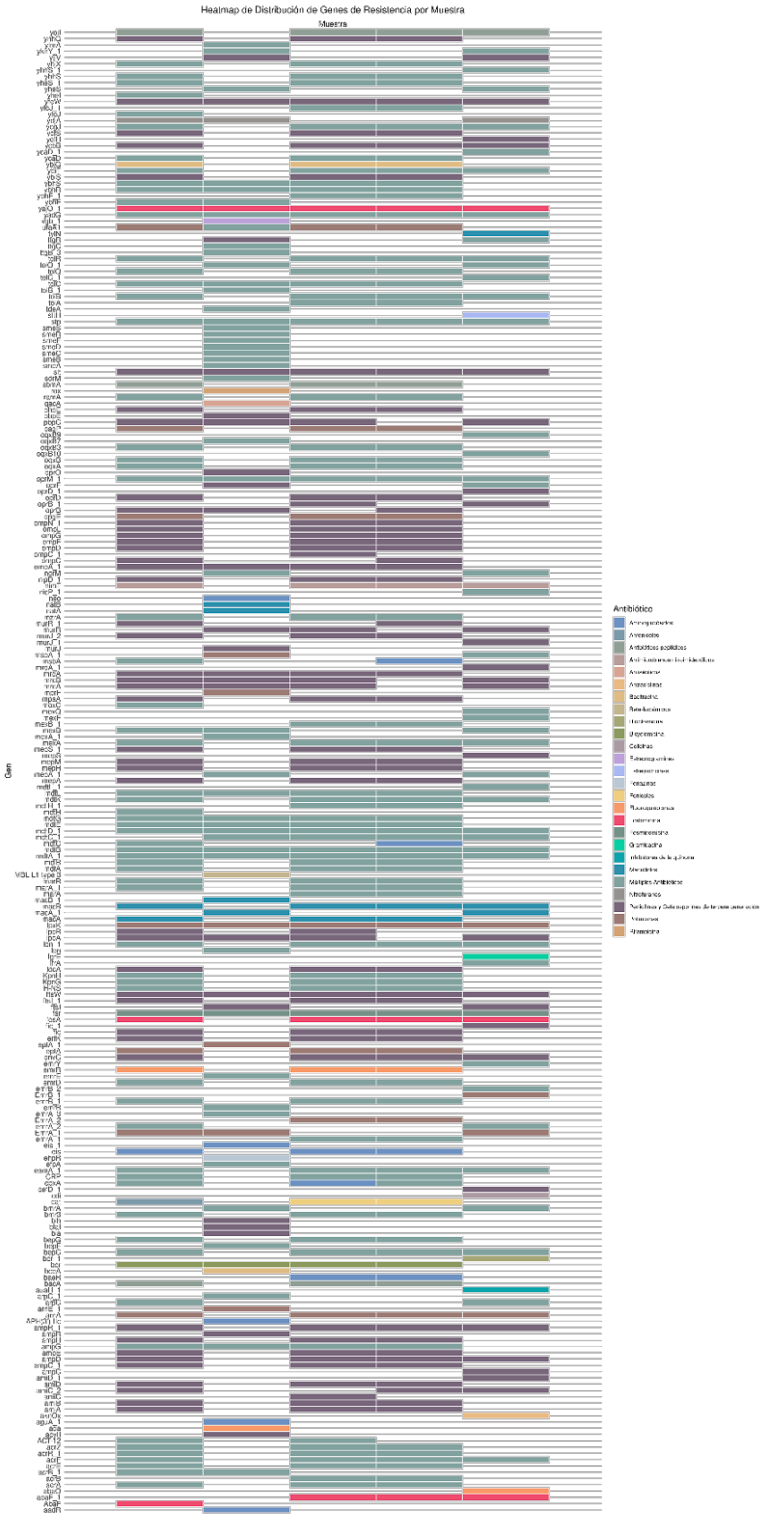


Figura 13. Genes de resistencia encontrados por muestra

En conjunto, se encontraron resistencias a 15 grupos de antibióticos mediados por diferentes mecanismos y genes. Estos son: beta-lactámicos (incluyendo cefalosporinas de cuarta generación y carbapenémicos), polimixinas, antibióticos peptídicos, aminoglucósidos, macrólidos, fluoroquinolonas, tetraciclinas, anfenicoles, antimicrobianos nitroimidazólicos, tetraciclinas, estreptograminas, antraciclinas, estreptotricinas, inhibidores de quinona y otros antibióticos individuales como bacitracina, biciclomicina, fosfomicina, fosfomidomicina, rifampicina y gramidacina. Las resistencias que corresponden a cada muestra son mostradas en la figura 14 a continuación.

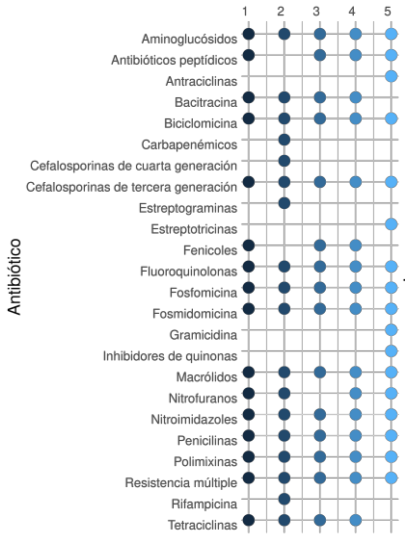


Figura 14. Resistencia antibiótica por muestra; 1 - QN-CAR-SAL-L-001-C; 2 - QN-ING-CEV-L-004-D; 3 - QN-ING-CEV-L-004-F; 4 - QN-ING-ESP-L-005-D; 5 - QN-ING-ESP-L-005-I

Entre otros genes destacados se encontraron en promedio 321 genes de virulencia, y 9 genes correspondientes a elementos de movilidad genética por muestra. El pipeline de Roary (Page et al., 2015) permitió la obtención del pangenoma; es decir los genes básicos y esenciales de un mismo clado filogenético o genes intrínsecos bacterianos. Los genes fuera del pangenoma son aquellos que no corresponden al genoma básico y por tanto se adquirieron por medio de transferencia genética (Bello-López et al., 2019). La tabla 8 demuestra la cantidad de genes en total por muestra clasificados con respecto a su naturaleza genómica. Por otro lado, se encontraron resistencias a metales pesados,

compuestos tóxicos, antisépticos, fármacos e incluso bacteriófagos. Con respecto a los genes de virulencia, se encontraron defensas contra especies reactivas de oxígeno, evasiones del sistema inmune del huésped, modificaciones de lipopolisacáridos y membrana, sideróforos, fimbrias, flagelos y otros elementos de adhesión y motilidad, producción de biofilm y genes para percepción de cuórum. Los genes de virulencia más representativos entre las muestras bacterianas son descritos en la tabla 9 a continuación. Paralelamente, se evidencian genes que median la secreción de compuestos citotóxicos para las células del huésped y/o a otras colonias bacterianas; como es el caso de las muestras 1, 3, 4 que tienen la capacidad de producir antimicrobianos como la colicina V (*cvpA*), mitomicina (*mmcR*); y la muestra 5 produce dapdiamida (*ddaF*), gramicidina (*lgrD_1, lgrB_1*), nebramicina (*tobZ*), y plipastatina (*ppsA_2*). Las figuras de anexos 1, 2, 3 y 4 detallan los genes encontrados para virulencia y otros tipos de resistencia.

Tabla 8. Cantidad de genes intrínsecos y adquiridos por muestra

Muestra	*Especie*	*Genes Intrínsecos*	*Genes Adquiridos*
QN-CAR-SAL-L-1C	*Enterobacter Ludwigii*	4076	110
QN-ING-CEV-L-4D	*Stenotrophomonas maltophilia*	3364	600
QN-ING-CEV-L-4F	*Enterobacter Ludwigii*	4060	114
QN-ING-ESP-L-5D	*Enterobacter Ludwigii*	4060	115
QN-ING-ESP-L-5I	*Pseudomonas fluorescens*	4736	505

Tabla 9. Genes de virulencia más representativos de los aislados bacterianos

Tipo	Genes de virulencia
Especies reactivas de oxígeno	*sodA, sodB, sodC, katG, katE, oxyR, ahpD, ahpC_1, ahpF, grxA, grxC, grxD, srpA, hmp, ohrB, egtA, cnoX, sigJ_1, dps, nrdH, yaaA, bhsA, gpx1, slyB, perR*
Evasión del sistema inmune del huésped	*vgrG1, eco, hha, igaA, loiP, pmbA, tldD, gspD, pla, etp, wzb, phoQ, rpoS, mprA_1, qseC, wzzB, mliC, yfhM , cpdB , ogl , secM, tisB, prsE_1 , epsE, ureC, ureB, ureA, gacC, socA, cvfB, ddaF, dns, shlA, shlB, ivy, aprA_1, mqsR, inh, xpsD, nucH, higB-2_1, vapC*

Modificación de membrana y lipopolisacáridos	*kdsC, waaA, kdsB, arnE, arnF, bepA, nagZ, rlpA, lpxT, lpxL, pagL, lpxB, rfaG, rfaP, ais, lptB, lptF, lptG, lptA, lptC, rfaC, hel, lspA, lolD, lolE, lptE, lptD, mltB, mltD, mltF, blc, slyB, mip, ompP1, pal, gmhA, rclR, tamA, lpxD, lpxC, arnB, arnT, arnC*) y sideróforos (*entA, ybdZ, entS, entB, entD, entE, entF, fes, iutA, fepC, fepE, fepD, fepG, fhuA_1, fcuA, fepA, fepB, fieF, fhuE, efeO, fhuC, fhuB, fhuD_1, iscA, feuC, entC, menF, yqjH, yusV, yfiZ, sbnD_1*
Sideróforos	*entA, ybdZ, entS, entB, entD, entE, entF, fes, iutA, fepC, fepE, fepD, fepG, fhuA_1, fcuA, fepA, fepB, fieF, fhuE, efeO, fhuC, fhuB, fhuD_1, iscA, feuC, entC, menF, yqjH, yusV, yfiZ, sbnD_1*
Fimbrias, flagelos y otros elementos de adhesión y motilidad	*fliC1, flgE, fliG, motA, motB, fliI, ycgR, flhC, flhD, flgM, pilQ, outO, pilT, fimA_1, fimD_1, ecpA, ecpD, mrkD, lpfA_1, caf1A, mrpA, csgA, csgB, csgC, csgE, csgF, csgG, gbpA, pllA*
Biofilm	*algA_1, algF, algK, algX, algE, algG, algJ, dgcM, dgcN, dgcP, vdcA, dgcC, dgcE, dgcQ, dgcT_1, pdeA, pdeB, pdeC, pdeD, pdeG, pdeK, pdeN, rpfG, bdcA, bdlA_1, alyA, bigR, bigR_1, bssS, algB, kinB, mucA, mucB, tabA*
Percepción de cuórum	*luxS, lsrB, lsrC, lsrD, lsrK, lsrR, pvdQ, quiP_1, attM, ytnP, anoI, sdiA, sdiA_1, rpaR, qseG, tsr_1, tar, trg_1, tap_1, pctC, ctpL, mcpS, pctA, pomA, cheR2*

Adicionalmente, el análisis bioinformático reveló varias familias de transposones y secuencias de inserción relacionados con la transferencia de genes de resistencia entre comunidades bacterianas. Igualmente, se distinguieron genes asociados a proteínas de transferencia de genes y de competencia, estos son ComM, Mbec y VirD4. ComM le da la capacidad al microorganismo de realizar transformación bacteriana al capturar ADN extracelular e incorporarlo a su propio genoma, VirD4 facilita la conjugación por medio de pili y Mbec se relaciona a la movilización de plásmidos específicos durante el proceso de conjugación (De La Cruz et al., 2010; Nero et al., 2018a). Estos elementos de movilidad genética se encuentran detallados por muestra en la tabla 10, en la cual se observa los transposones o secuencias de inserción y sus familias.

Tabla 10. Elementos de movilidad genética por muestra

Muestra	Elemento de Movilidad Genética	Familia
QN-CAR-SAL-L-1C	IS1222	IS3
	Tn10 TetC	Tn3
	ISSsu9	IS1595
	ISRaq1	IS3
	ISSen4	IS3
	ISSpr2	IS3
	ComM	
QN-ING-CEV-L-4D	ISRso16	IS3
	ISPa43	Tn3
	ISBsp7	IS1595
	ISXac4	IS3
	IST3091	IS30
	ISStma11	ISL3
	TnAs1	Tn3
	Tn10 TetC	Tn3
	VirD4	
QN-ING-CEV-L-4F	IS1222	IS3
	Tn10 TetC	Tn3
	ISRaq1	IS3
	ISSen4	IS3
	ISSsu9	IS1595
	ComM	
QN-ING-ESP-L-5D	IS1222	IS3
	Tn10 TetC	Tn3
	ISRaq1	IS3
	ISSen4	IS3
	ISSpr2	IS3
	ISSsu9	IS1595
	ComM	
QN-ING-ESP-L-5I	ISBsp7	IS1595
	ISBmu3	IS21
	ISPpu7	IS21
	ISPen1	IS4
	ISPpu8	IS4
	ISPpu13	IS66
	ISYps3	Tn3
	TnXax1	Tn3
	Tn10 TetC	Tn3
	ComM	

Por último, se realizó el análisis de pangenoma, en el cual utilizando Roary (Page et al., 2015) se pudieron observar aquellos genes que fueron adquiridos y otros que son propios o intrínsecos de cada bacteria. Se identificó que en todas las muestras, la mayoría de genes adquiridos se trataban de genes de virulencia, o resistencias antimicrobianas o a metales pesados. Particularmente, resulta de interés la comparación genética entre las muestras de *Enterobacter ludwigii* del parque la carolina y el parque Inglés, provenientes de distintos tipos de comida. Se puede evidenciar que las bacterias poseían genes adquiridos estrechamente similares entre sí, aunque se pueden notar pocas diferencias entre la muestra del parque La Carolina y las muestras del parque Inglés. El alineamiento con FastANI (Jain et al., 2018) demuestra que las bacterias de la muestra de salsas de la carolina, y la muestra de cevichocho del parque Inglés, coinciden en un 99.9982% de su genoma; la muestra de salsas de la carolina y la muestra de espumilla del parque Inglés coinciden en 99.9979%; y las muestras de cevichocho y espumilla del parque Inglés coinciden en 99.9939% en su genoma. Adicionalmente, el análisis de MLST en Galaxy (Seemann, 2025) revela una coincidencia del 100% en los alelos de genes constitutivos, tal como se ve en la figura 15. Por último, el análisis filogenético basándose en SNPs demuestra una alta similitud entre las muestras en comparación con el genoma de referencia; los datos exactos sobre las distancias filogenéticas son descritos en la tabla 11. Como resultado, se obtuvo el árbol filogenético de la figura 16, en donde el outgroup se trata de un genoma de referencia para *E.ludwigii* con el código de acceso ASM175072v1.

Column 1	Column 2	Column 3	Column 4	Column 5	Column 6	Column 7	Column 8	Column 9	Column 10
Prokka on data 38: fna	ecloacae	-	dnaA(15)	fusA(217)	gyrB(126)	leuS(2)	pyrG(2)	rplB(2)	rpoB(14)
Prokka on data 42: fna	ecloacae	-	dnaA(15)	fusA(217)	gyrB(126)	leuS(2)	pyrG(2)	rplB(2)	rpoB(14)
Prokka on data 46: fna	ecloacae	-	dnaA(15)	fusA(217)	gyrB(126)	leuS(2)	pyrG(2)	rplB(2)	rpoB(14)

Figura 15. Resultados de MLST con respecto a alelos de genes constitutivos. Los códigos de nombre asignados por Galaxy corresponden a las muestras de la siguiente forma: Prokka on data 38 - QN-CAR-SAL-L-1C, Prokka on data 42 - QN-ING-CEV-L-4F, Prokka on data 46 - QN-ING-ESP-L-5D

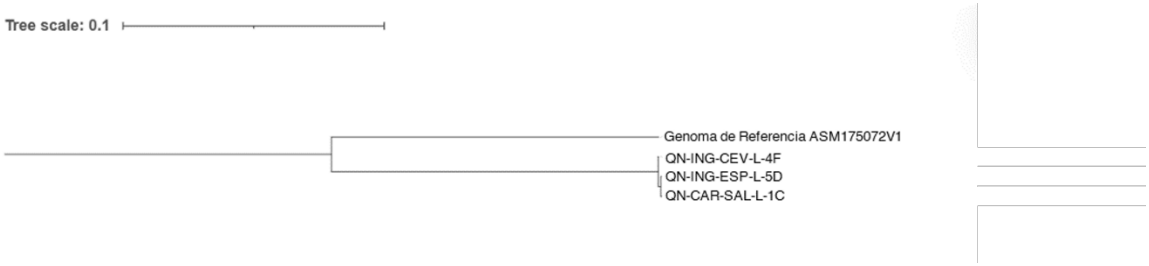


Figura 16. Árbol filogenético a base de SNPs en comparación con genoma de referencia ASM175072V1

Tabla 11. Distancias filogenéticas basándose en SNPs entre muestras de E.ludwigii y genoma de referencia ASM175072V1

	ASM175072V1	*QN-CAR-SAL-L-1C*	*QN-ING-CEV-L-4F*	*QN-ING-ESP-L-5D*
ASM175072V1	0.0	3.4595535	3.4797805	3.48619667
QN-CAR-SAL-L-1C	3.4595535	0.0	0.0066349	0.0058251
QN-ING-CEV-L-4F	3.4797805	0.0066349	0.0	0.0020672
QN-ING-ESP-L-5D	3.48619667	0.0058251	0.0020672	0.0

DISCUSIÓN

Los hallazgos demuestran la presencia de genes de resistencia antimicrobiana en bacterias aisladas de la comida callejera del norte del DMQ. Se evidencia una alta prevalencia de genes de resistencia a betalactámicos, tetraciclinas, polimixinas y macrólidos; así como mecanismos de resistencia a múltiples antibióticos. Estos resultados sugieren que la comida callejera puede ser un reservorio de microorganismos resistentes y genes de resistencia, lo que tiene grandes impactos en la salud pública (Verraes et al., 2013). Adicionalmente los resultados alertan sobre la contaminación de la comida callejera del norte del DMQ por parte de microorganismos patógenos oportunistas, mismos que se caracterizan por acumular GRAs en ambientes altamente expuestos a antibióticos y bacterias multirresistentes y diseminarlos a otras especies bacterianas (von Wintersdorff et al., 2016). Este tipo de organismos se encuentran con facilidad en la microbiota hospitalaria, en efluentes hospitalarios, en plantas de tratamiento de agua y en llaves de agua y tuberías; señalando a los cuerpos de agua residuales como una de las principales fuentes de contaminación de la comida callejera (Brooke, 2012; Scales et al., 2014; Davin-Regli et al., 2019)

Es fundamental notar la identificación de transposones, secuencias de inserción y otros elementos que facilitan la transferencia genética. Se evidencia una alta frecuencia de elementos de movilidad genética por la cual estos microorganismos pueden adquirir y distribuir genes de resistencia antimicrobiana a otras especies bacterianas (Partridge et al., 2018). En el contexto de la comida callejera y el ambiente urbano, la co-presencia de bacterias resistentes facilita la transferencia de estos elementos, lo que puede generar cepas con resistencia múltiple (Huijbers et al., 2015). En este sentido se establece una problemática sobre la transferencia horizontal de genes de resistencia entre las bacterias presentes en la comida callejera a otras bacterias con mayor capacidad de infección o con alta relevancia clínica. Adicionalmente, la transferencia de genes de resistencia puede ocurrir con bacterias propias de la microbiota intestinal, que posteriormente pueden causar disbiosis o infecciones resistentes (Huddleston, 2014). Se determina a la comida callejera

contaminada como un medio para la transferencia de genes y como un vehículo de diseminación de bacterias multirresistentes con la capacidad de provocar brotes infecciosos (Nguyen-Viet et al., 2017).

Asimismo, los genes de resistencia adquiridos se identificaron mediante análisis bioinformático. Los resultados indican cuáles genes son propios de la bacteria y cuáles se han transferido; de esta forma se señalan aquellos genes de diseminación epidémica rápida (Partridge et al., 2018). Sin embargo, es importante mencionar que algunos genes intrínsecos sí pueden ser movilizados por medio de transposones, por lo que es necesario realizar la vigilancia activa de los genes con mayor frecuencia y capacidad de diseminación (von Wintersdorff et al., 2016; Martínez et al., 2015) Aquellos GRAs que se encuentran en muestras ambientales deben ser altamente vigilados, pues al estar presentes fuera de ambientes hospitalarios y circulando en poblaciones humanas, animales y ambientales, son considerados comunitarios. Esto significa que estos genes se encuentran en constante diseminación, creando un ciclo continuo de generación de resistencia (Hernando-Amado et al., 2019).

1. Contextualización de resultados en el panorama científico actual

Las muestras de *E. ludwigii* encontradas tanto en La Carolina como en el parque Inglés muestran perfiles genéticos consistentes a lo reportado anteriormente en la literatura. El análisis genético reveló genes característicos de esta especie acerca de sus mecanismos de resistencia intrínsecos; entre ellos, *ampC*, *ampD*, *ampH* y *ampR*. Específicamente la betalactamasa $_{bla}$*ACT-12* se encontró en las muestras uno y cuatro; se trata de una betalactamasa característica de las cepas bacterianas del género *Enterobacter* de tipo ampC. Lo indicado se alinea con los hallazgos de Annavajhala et al. (2019) que reportaron resistencias por medio de betalactamasas *ampC* como el principal mecanismo de resistencia de *E. ludwigii*. Los genes de bombas de eflujo (*AcrAB-TolC, EmrAB-TolC, YbhFSR, OqxAB,* y *mdtA*) son consistentes con lo reportado por Davin-Regli et al. (2019). Este estudio caracteriza a las especies de *Enterobacter* como resistentes a polimixinas y

penicilinas por medio de estas bombas de eflujo. Asimismo, la baja permeabilidad por parte de porinas alteradas (*ompC* y *ompF*) contribuye a la resistencia a antibióticos (Fernández & Hancock, 2012).

Se ha identificado a este microorganismo dentro de la comida en otros estudios internacionales. El estudio de Cho et al. (2021) detecta a *E. ludwigii* como una de las bacterias más predominantes en frutas y verduras en el norte de Alemania. Estas cepas demostraron un alto porcentaje de resistencia a cefemipa, cefoxitina, y amoxicilina+ ácido clavulánico. El análisis de secuenciación demuestra betalactamasas y cefalosporinasas tipo *ampC*, genes *oqxAB*, y *catA*; esto es una coincidencia con los genes encontrados en las muestras del norte del DMQ.

En el contexto de Latinoamérica, los estudios de Flores-Carrero et al. (2016) documentaron un brote de contagio de *E. ludwigii* multirresistente en una unidad neonatal en Venezuela. Al igual que las muestras del presente estudio, los aislados demostraban resistencia a colistina, cefotaxima, macrólidos, penicilinas y cefalosporinas. Por otro lado, las colonias bacterianas del brote en este hospital mantenían resistencia a carbapenémicos.

El análisis bioinformático con Roary señala que la mayoría de los GRAs de *E. ludwigii* se tratan de genes intrínsecos. Sin embargo, se destaca a *tetC*, *bacA* y *nimT* como genes adquiridos por medio de THG. No se identificaron plásmidos en las muestras bacterianas. Sin embargo, los elementos de movilidad genética de la familia IS3 (IS1222, ISRaq1, ISSen4, ISSpr2, ISXac4) son comúnmente prevalentes en especies de *Enterobacter*. Vandecraen et al. (2017) mencionan que además de su alta frecuencia, existe una fuerte asociación entre la familia IS3 y los fenotipos de múltiple resistencia. Por otro lado, la familia Tn3 (tetC Tn10) mantiene una fuerte asociación con la movilidad de genes de resistencia y tienden a formar islas de resistencia que se mueven a través de transposones (Shintani et al., 2023; Toleman & Walsh, 2011).

El extenso perfil de resistencia de la muestra de *S. maltophilia* se alinea con su denominación de organismo multirresistente (MDRO). Primeramente, las enzimas L1 y L2 metalobetalactamasa coinciden con la caracterización realizada por Brooke (2012), en la cual se establece su función como enzimas que hidrolizan todos los antibióticos betalactámicos. Este gen es de carácter intrínseco para *S. maltophilia.* Esto explica la resistencia a carbapenémicos, y la detección de betalactamasas de espectro extendido en las pruebas de susceptibilidad y sinergia de antibióticos. Adicionalmente, las bombas de eflujo identificadas (*EmrAB-TolC, MexAB-OprM, SmeABC, SmeDEF, TtgABC, YbhFSR*) se alinean con lo estipulado por Adegoke et al. (2017) y Brooke (2015); se mencionan a estos mecanismos como intrínsecos. En específico, *SmeABC* y *SmeDEF* son propias de este microorganismo y confieren resistencia a quinolonas, tetraciclinas, cloranfenicol, eritromicina, aminoglucósidos, y betalactámicos (Adegoke et al., 2017). Estos sistemas son congruentes con las resistencias fenotípicas observadas.

En referencia a la distribución geográfica, este representa el primer reporte de *S. maltophilia* en muestras alimenticias del Ecuador. Los reportes de prevalencia de *S. maltophilia* en muestras clínicas resaltan a esta bacteria como responsable del 0.5% de infecciones a nivel nacional, ubicándola en el puesto número 13 entre bacterias Gram negativas (Satán et al., 2023). Por otro lado, esta bacteria fue identificada como uno de los seis patógenos más prevalentes en pacientes de neumonía en Estados Unidos en 2017, y dentro de los diez patógenos causantes de neumonía en América Latina en 2010 (Brooke, 2021). Vila y Marco (2010) identifican a *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y *Stenotrophomonas maltophilia* como los tres bacilos Gram negativos no fermentadores de mayor relevancia clínica, esto con base en su capacidad de multirresistencia.

Los elementos de movilidad genética identificados en *S. maltophilia* (ISRso16, ISPa43, TnAs1, y Tn10 *TetC*) se asocian con la transferencia de genes de resistencia. Siguier et al. (2014) y Partridge et al. (2018) establecieron a estos elementos como transportadores de genes de resistencia, indicando la alta capacidad de adquisición y

diseminación que tiene este aislado bacteriano. Estos transposones pueden ser el motivo de la identificación de varios genes adquiridos en esta muestra (*neo, aguA_1, APH(3')-IIc, tetC, bcr, rox, y vgb_1*). Qian et al. (2025) demuestra la elevada asociación de ISTsma11 con GRAs como *tet*, *bcrA* y *macB*. Asimismo, el estudio menciona la relación de este transposón con la presencia de bacterias con estos genes de resistencia compartidos entre cerdos, humanos y suelo. Los transposones Tn3 tienen un rol importante en la determinación de patogenicidad y resistencia (Pfeiffer et al., 2018). Por otro lado, las IS30 e IS3 son identificados como elementos de transposición de genes de resistencia. La revisión sistemática de Lipszyc et al. (2022) señala a ambos como movilizadoras de genes de resistencia; IS3 genes como *neo*, *acrEF* y *ampC*, mientras que IS30 genes relacionados a betalactamasas, y enzimas modificadoras de aminoglucósidos; y genes de resistencia a cloranfenicol.

El aislado de *P. fluorescens* demostró resistencia a todos los antibióticos en el antibiograma menos a meropenem; esto se alinea con lo caracterizado por Silverio et al. (2022) en relación a los mecanismos intrínsecos de resistencia en especies de *Pseudomonas*. La observación microscópica revela una pigmentación reducida de la pared con espacios visibles, esto sugiere una acción parcial de los carbapenémicos, y se puede evidenciar en la imagen microscópica de la figura 17 a continuación. Esto es consistente con los hallazgos genómicos, en donde se evidencian genes de alteraciones de permeabilidad en lugar de genes específicos de resistencia a carbapenémicos. En primer lugar, las bombas de eflujo características del género Pseudomonas (*AcrAB-TolC, EmrAB-TolC, mdtK, MexAB-OprM, ttgABC*) confirman la multirresistencia observada. Yamasaki et al. (2023) relaciona a la bomba de eflujo *AcrAB-TolC* con la resistencia a múltiples antibióticos que incluyen la colistina. Adicionalmente, las alteraciones de la porina *OprD* se asocian con la reducción de la permeabilidad frente a carbapenémicos y otros antibióticos (Yang et al., 2025).

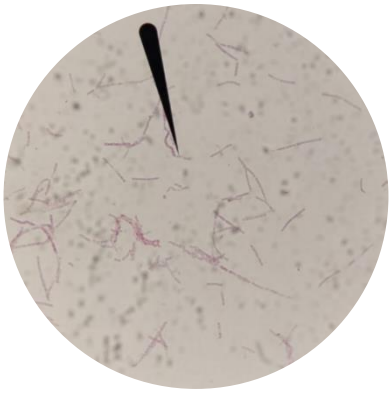


Figura 17. Imagen microscópica de la muestra bacteriana 5 con la pared perforada y tenue al ser expuesta a carbapenémicos

En comparación con literatura internacional, el análisis bioinformático de Silveiro et al. (2022) utiliza secuencias del complejo *P. fluorescens* disponibles en la base de datos del NCBI. Estas muestras genómicas provienen de diferentes nichos ambientales, incluyendo productos alimenticios como pollo, ensaladas vegetales, pescado y queso. Todas las bombas de eflujo y genes intrínsecos coinciden entre muestras. El análisis realizado en Noruega detectó resistencia a colistina en *Pseudomonas spp*. Sin embargo, no se encontraron genes de resistencia tipo *mcr*. Los genes relacionados e identificados que median la resistencia a colistina fueron *emrA, lpxA, lpxD, pgsA, phoP, phoQ* (Heir et al., 2021); demostrando una coincidencia con lo encontrado en la muestra de espumilla del parque Inglés. Mientras que se notó una alta prevalencia de resistencia a las polimixinas en colonias de Italia (Piccirilli et al., 2019) y Noruega (Heir et al., 2021), mismas que estaban mediadas por genes cromosómicos. Adicionalmente, se reconocieron muestras resistentes a carbapenémicos con la distinción que el gen adquirido se localizaba en el cromosoma. Otros reportes clínicos de diversos países señalan a cuerpos de agua o alimentos como responsables de infecciones resistentes a carbapenémicos de *P. fluorescens*; mismos en los que no se identificó genes codificantes para carbapenemasas y sugieren que la resistencia proviene de otros mecanismos (Harmon et al., 2018; Laurens et al., 2018).

Los análisis de Roary (Page et al., 2015) exponen varios genes adquiridos (*nimT, sttH, aknOx, lgrE, lgrB, tylN, y bcr*). Esto sugiere una transferencia horizontal de genes

activa en esta muestra, situación que coincide con la presencia de una variedad de elementos de movilidad genética asociados a genes de resistencia. Los elementos de la familia IS21, como ISBmu3 e ISPpu7, demuestran el potencial de adquirir genes relacionados a carbapenemasas. Lipszyc et al. (2022) documenta la asociación entre los elementos IS21 y la adquisición de genes de metalobetalactamasas *bla* o carbapenemasas, mientras que IS4 moviliza genes *ampC*, *bla*, *acrEF*. Asimismo, Rana et al. (2024) informa que Tn3 e IS4 tienen una asociación estrecha con múltiples genes de resistencia. La presencia de estos elementos de movilidad va acorde a la diversidad ecológica de *P. fluorescens* y su alta capacidad de adquisición de genes; que pone en evidencia a su potencial como reservorio de GRAs.

Si bien *P. fluorescens* no es un patógeno humano de manera característica, puede actuar como un patógeno oportunista y causar infecciones en múltiples sistemas del cuerpo humano. Sin embargo, la relevancia principal de este patógeno dentro del tema de salud humana se basa en su capacidad de ocupar una extensa variedad de nichos ambientales (hospitales, agua, suelo, y animales). Por este motivo, la revisión de Silveiro et al. (2022) recoge reportes de este microorganismo multirresistente en diferentes hábitats ecológicos. Desde una perspectiva *One-Health*, la información de la revisión indica el rol de las especies del complejo *P. fluorescens* como actor ambiental en la cadena de transferencia de resistencias. Los estudios de Forsberg et al. (2013) establecen la capacidad de transferencia que tienen los microorganismos del complejo *P. fluorescens* hacia bacterias de carácter clínico; al demostrar una secuencia de nucleótidos idéntica entre muestras. Todo esto es consistente con la capacidad conocida del organismo a actuar como un reservorio de genes de resistencia transferibles (Silveiro et al., 2025).

Los patrones de resistencia encontrados concuerdan con muchos de los genes característicos del resistoma alimenticio. Se reconoce a los genes *tet, cat, aad, mdt, y bcr* como genes comunes entre patógenos alimenticios (Babines-Orozco et al., 2024; Fernández-Trapote et al., 2024; Rafiq et al., 2022 Verraes et al., 2013). Por otra parte, los estudios de Li et al. (2020) describen que los genes más abundantes en las muestras

analizadas de comida callejera en China son *catA, bacA, tet, ermB, aph(3')-IIIa, bcr, macB, mdtH, mdfA, mexB, TolC, acrB, y emrD.* Se pueden notar varias similitudes entre los genes encontrados en los diferentes estudios a nivel global. Asimismo, el artículo científico de Cao et al. (2022) y Zurfluh et al. (2020) señalan la relación entre los genes de resistencia en comida, microbiota intestinal en animales y la microbiota intestinal humana; revelando que los genes comúnmente compartidos son *FosA, oqxAB, y aph*. Adicionalmente se señala su alta relación con plásmidos, transposones, secuencias de inserción e integrones (Zurfluh et al., 2020). Por último, es importante notar la presencia de los genes *tetC y nimT* en todas las bacterias analizadas. La presencia de estos genes de carácter adquirido de forma compartida puede ser un indicativo de la movilidad activa de estos genes entre bacterias presentes en alimentos de las zonas muestreadas.

La presencia generalizada del gen *tetC* en las muestras analizadas, especialmente en conjunto de los transposones Tn10-tetC, evidencia una notable conservación de este determinante de resistencia a través de las cadenas de alimento. Este patrón de distribución concuerda con estudios previos que rastrearon transposones portadores de *tetC* en carnes de venta al por menor, instalaciones de procesamiento y entornos agrícolas (Alam et al., 2023). La identificación de transposones idénticos que portan *tetC* en bacterias Gram positivas y Gram negativas de diversas fuentes alimentarias respalda la conclusión de que los elementos de resistencia a tetraciclina representan algunos de los determinantes de resistencia más exitosamente diseminados en comunidades bacterianas asociadas con la producción de alimentos (Chopra & Roberts, 2001). Además, la asociación frecuente de transposones Tn10-tetC con genes que confieren tolerancia a métodos de conservación de alimentos sugiere un mecanismo de co-selección que contribuye a su persistencia, incluso en ausencia de presión selectiva por tetraciclina (Wales & Davies, 2015).

Por último, los ensayos de clonalidad entre las especies de *E. ludwigii* de diferentes ubicaciones de muestreo y tipos de comida apoyan a la hipótesis de la diseminación comunitaria de determinantes de resistencia. La alta similaridad genética, es decir, superior al 99,99% de coincidencias en sus bases nitrogenadas, son evidencia del carácter

comunitario que tiene la bacteria en el norte de la ciudad. Asimismo, el análisis en MLST que indica el 100% de coincidencia entre los alelos bacterianos son otro indicativo de clonalidad y de la diseminación comunitaria de *E. ludwigii*. El análisis filogenético basado en SNPs revela el estrecho parentesco genético de los aislados bacterianos, demostrando una vez más su carácter clonal. Este alto grado de similitud genética entre cepas aisladas de diferentes ubicaciones geográficas y distintos tipos de alimentos sugiere una fuente común de contaminación o un alto nivel de transmisión bacteriana entre los sitios de venta de alimentos (Hoffmann et al., 2016). La clonalidad observada es particularmente preocupante desde la perspectiva de salud pública, ya que indica que estas cepas resistentes a múltiples antibióticos están circulando ampliamente en el ambiente urbano y tienen el potencial de causar infecciones con perfiles de resistencia similares en diferentes ubicaciones. Además, la presencia de clones altamente similares en diferentes muestras sugiere una adaptación exitosa de estas cepas al nicho ecológico de los alimentos de venta ambulante, lo que podría facilitar su persistencia y diseminación continua en la comunidad (Fusaro et al., 2024).

2. Interpretación de los perfiles genéticos y fenotípicos de resistencia

Son varias las posibles rutas de contaminación que pueden explicar los hallazgos microbiológicos en las muestras de comida de venta informal. Entre ellas, se destacan las malas prácticas higiénicas que mantienen los vendedores (Tenea et al., 2023). La limpieza de manos de las personas que manejan la comida es un punto crítico, pues Nizame et al. (2019) documentan que solamente el 3% de los manipuladores de alimentos vendidos en la calle tienen prácticas adecuadas de aseo de manos; teniendo efectos directos en la contaminación de alimentos y sus patrones. La forma de preparación también contribuye al riesgo, pues la contaminación cruzada entre ingredientes cárnicos crudos y la comida cocida se ha identificado en el 43% de la comida preparada en puntos de venta informal (Atter et al., 2015). Por otro lado, el contacto con superficies no estériles representa otra ruta de contaminación potencial. A lo largo de la fase de muestreo, se evidenció un espacio

de almacenamiento y superficies de manejo de comida en condiciones subóptimas. La desinfección de los espacios de venta en ambientes al aire libre puede ser un desafío, pues, los factores ambientales y el flujo de personas y animales aumentan la frecuencia de la contaminación de superficies y almacenamiento.

Las prácticas culinarias también tienen un rol significativo en la eliminación de microorganismos. Un factor significativo para los resultados del presente estudio fue la selección de alimentos que no pasan por un proceso de cocción e implementan productos frescos para su preparación. La contaminación microbiológica es significativamente más prevalente en comida de venta informal que no se expuso a temperatura, pues la cocción influencia en la presencia y cantidad de microorganismos presentes en la comida (Carrasco et al., 2012). Asimismo, el estudio establece que el uso de comida que se cocinó de manera correcta, o que ingredientes frescos (vegetales, frutas, quesos) contaminados pueden facilitar la contaminación y diseminación bacteriana directamente a humanos. Los factores ambientales del espacio de venta y preparación de alimentos juegan un papel importante en la contaminación microbiológica de la comida. Las observaciones durante el muestreo señalan a patrones de almacenamiento inapropiados, como la venta de alimentos con alta exposición al calor del ambiente. La falta de control de temperatura puede permitir que los patógenos de la comida se proliferen con facilidad (Carrasco et al., 2012). Por otra parte, es común que el ambiente de venta tenga acceso limitado a agua potable, dificultando las prácticas higiénicas. La interacción del ambiente, humanos y animales contribuyen extensamente en la contaminación de los alimentos. Estas interacciones son comunes en los parques, en donde mascotas, palomas, niños pequeños y personas cercanos a los puntos de preparación de comida (Campos et al., 2015).

La interacción entre el ambiente y los animales en los sitios de venta puede contribuir aún más a la contaminación de los alimentos. A lo largo del muestreo, observamos la presencia de varios animales cerca de las áreas de manipulación de alimentos, incluidas palomas, pollos y perros. Además, los niños pequeños frecuentemente estaban presentes en los puntos de preparación de alimentos. El estudio de Ortega-Paredes

et al. (2019) identifica bacterias con genes de resistencia presentes en parques del DMQ, recalcando la exposición ambiental a microorganismos resistentes en un parque. Asimismo, el estudio de Amato et al. (2023) indica que el contacto entre animales, mascotas y niños se asocian a un alto riesgo de portación de bacterias resistentes, señalando el impacto potencial entre las interacciones bacterianas del ambiente.

El análisis de Balkhair (2016) señala la relación entre los alimentos vegetales y la contaminación del agua. Sus hallazgos demuestran que las aguas residuales usadas para riego cuando están contaminadas con bacterias resistentes a antibióticos y genes de resistencia antimicrobiana pueden tener la capacidad de transferirse a cultivos y suelos agrícolas. Asimismo, la investigación de Dorado-García et al. (2017), evaluó la similitud genética y molecular de los genes de resistencia en distintos ambientes. Sus resultados demuestran una compartición de genes de resistencia altamente similares en comunidades rurales, con lo que respecta a animales de granja y humanos. Además, en comunidades urbanas, la estrecha relación genética entre bacterias multirresistentes fue encontrada en aguas residuales, agua superficial, pacientes clínicos, comida y aves.

El análisis genético identificó elementos de movilidad genética relacionados a la transferencia de GRAs o genes de virulencia, siendo la familia Tn3 uno de los grupos más asociados con la transferencia de resistencias (Nicolas et al., 2017). Esto sugiere un potencial de las bacterias multirresistentes a diseminar genes de resistencia a otras especies de origen ambiental. Resulta preocupante la posibilidad de las bacterias a actuar como reservorios de resistencia que posteriormente podrían transferir sus genes a otros patógenos presentes en comida. Adicionalmente, los microorganismos con alta adaptabilidad ecológica con capacidad de prosperar en muchos ambientes pueden tomar el papel de actores de la cadena de transferencia (Silveiro et al., 2022). Se teoriza que la comida puede estar actuando como un medio en el cual se reparten genes entre bacterias oportunistas y bacterias con altos índices de infección.

El agua representa un medio potencial y significativo para la diseminación de genes y microorganismos resistentes; pues actúa tanto como un reservorio y un transportador de bacterias. El ciclo del agua urbano puede tener un rol clave en el transporte de residuos de antibióticos y bacterias resistentes (Nnadozie & Odume, 2019). La contaminación del agua también puede facilitar la propagación y formación de bacterias resistentes, así como la insalubridad de alimentos (Lupo et al., 2012). Pues, el agua contaminada puede ser el puente de transferencia directa de bacterias multirresistentes directamente hacia los vegetales (Gudda et al., 2020).

3. Implicaciones para el sistema de salud y la seguridad alimentaria

Tanto *E. ludwigii* como *P. fluorescens* son principalmente considerados patógenos oportunistas, que causan infecciones a individuos inmunocomprometidos en lugar que a la población saludable. *P. fluorescens* es una bacteria ampliamente distribuida en el ambiente, pero se asocia a infecciones de carácter hospitalario (Scales et al., 2014). De igual manera *E. ludwigii* se ha aislado de distintas muestras clínicas de poblaciones vulnerables (Mezzatesta et al., 2012). A pesar de ser menos reportada que otras especies del género Enterobacter, *E. ludwigii* se relaciona con infecciones asociadas a hospitales o a infecciones comunitarias, particularmente en pacientes con condiciones médicas presentes (Davin-Regli et al., 2019).

La identificación de *S. maltophilia* es de gran relevancia, pues se trata de una bacteria oportunista con un alto incremento con respecto a su importancia y prevalencia en los últimos años. A pesar de haberse considerado como una bacteria de significancia clínica limitada, la bacteria ganó relevancia debido a su resistencia intrínseca a múltiples antibióticos y su asociación con infecciones graves. De acuerdo con Brooke (2012), esta bacteria se reconoce como una de las bacterias multirresistentes más comunes en unidades hospitalarias a nivel mundial. Es causante de varios tipos de infecciones, con un índice de mortalidad de hasta 37,5% en casos de bacteriemia (Chang et al., 2015). Su prevalencia incrementó de manera sustancial en las últimas décadas, con un reporte de 6,5% de índice

de prevalencia global en muestras clínicas en el año 2019 (Banar et al., 2023). Los factores que aumentan el riesgo de infección son las enfermedades o infecciones preexistentes, terapia con antibióticos previa, tratamientos hospitalarios y una co-infección (Brooke, 2021). Pompilio et al. (2011) reportó que *S. maltophilia* es frecuentemente aislada en conjunto con otros patógenos, donde su presencia complica significativamente los tratamientos. En el contexto de infecciones asociadas a alimentos, *S. maltophilia* puede exacerbar la situación clínica. Brooke et al. (2012) documentó casos en donde *S. maltophilia* en conjunto con patógenos asociados a comida resultó en hospitalizaciones prolongadas, severidad incrementada de los síntomas y una reducción importante de la efectividad de los antibióticos.

La presencia de patógenos oportunistas con múltiples genes de resistencia antibiótica representa un riesgo potencial a los consumidores de comida de venta informal. Mientras que las personas con un sistema inmune robusto comúnmente no presentan complicaciones, las poblaciones más vulnerables como niños, personas de la tercera edad, mujeres embarazadas e individuos inmunocomprometidos podrían afrontar riesgos significativos de salud al consumir comida callejera (Rossi et al., 2023). Adicionalmente, el riesgo de brotes también puede ser un problema significativo. Los espacios de venta de comida al aire libre pueden convertirse en puntos clave de transmisión de patógenos con resistencia a antibióticos. Dadas las condiciones ambientales a las que están expuestos estos alimentos, las bacterias presentes pueden afectar a múltiples consumidores y potencialmente generar brotes localizados (Paudyal et al., 2017).

La capacidad de transferencia horizontal de genes de las muestras bacterianas indica el potencial de traspaso de resistencia desde las bacterias presentes en la comida hacia la microbiota intestinal. La presencia de una elevada variedad y cantidad de poblaciones bacterianas en el intestino crean el entorno ideal para este intercambio (von Wintersdorff et al., 2016). La transferencia potencial de los genes de GRA resulta preocupante por tres motivos. Primero, las bacterias comensales del intestino pueden servir como reservorios de genes de resistencia a largo plazo (Sommer et al., 2017). Segundo,

estos genes pueden ser posteriormente transferidos a bacterias patógenas en eventos de infección, causando complicaciones en los tratamientos (Bengtsson-Palme et al., 2018). Y por último, la posibilidad de disbiosis y otras complicaciones relacionadas a la microbiota intestinal. La introducción de bacterias resistentes a antibióticos a través de alimentos puede alterar significativamente el equilibrio microbiano intestinal. Según Langdon et al. (2016), la presencia de bacterias portadoras de GRAs en el intestino puede desplazar a microorganismos beneficiosos, comprometiendo funciones metabólicas e inmunológicas esenciales. Willmann et al. (2019) demostró que individuos que habían adquirido bacterias intestinales multirresistentes presentaban una reducción significativa en la diversidad microbiana.

Los estudios de von Wintersdorff al. (2016) demostraron genes de resistencia transferidos desde bacterias presentes en comida hacia la microbiota intestinal después de varias semanas desde el consumo, sugiriendo una transferencia genética exitosa. Similarmente, Karanika et al. (2017) encontró que el consumo regular de comida contaminada con microorganismos resistentes por medio de betalactamasas se asocia con bacterias intestinales portadoras de estos genes en individuos saludables. A pesar de que estas transferencias son fundamentadas con investigaciones y ensayos de laboratorio, se desconoce la frecuencia y significancia clínica de estos eventos.

4. Limitaciones metodológicas y consideraciones futuras

El estudio realizado resulta en hallazgos significativos y diversos. Sin embargo, se evidencian ciertas limitaciones en referente a su metodología y diseño. En primer lugar, el tamaño de la muestra no es lo suficientemente amplio para que pueda representar las características generales del resistoma alimenticio en la ciudad. Para que los resultados puedan ser utilizados para la toma de medidas preventivas o correctivas, se deben realizar ensayos cuantitativos que abarquen todas las zonas de la ciudad y tengan una mayor variedad del tipo de alimento. Los resultados de esta investigación son solamente un referente sobre la presencia de genes en la comida callejera vendida en el norte del DMQ.

Adicionalmente, el estudio se vio afectado por la disponibilidad de recursos y financiamiento, pues por medio de otros métodos de análisis se podrían haber obtenido resultados más extensos. Por ejemplo, al realizar un estudio metagenómico, se hubieran conseguido datos con exactitud de todas las bacterias presentes en las muestras en conjunto con sus datos cuantitativos. Adicionalmente, por medio de los resultados extensos de una secuenciación metagenómica se podrían haber recuperado mayor cantidad de datos sobre los GRAs; y de esta forma detectar otros genes y bacterias que se pasaron por alto. Es por esto que si se busca realizar un análisis que se use como base para el planteamiento de acciones, se debe utilizar técnicas que permitan la obtención de la mayor cantidad de información, tal como la metagenómica.

La variabilidad en las prácticas de manipulación entre diferentes vendedores constituye una variable no controlada que podría impactar los resultados. Estudios realizados por Carrasco et al. (2012) demuestran que las diferencias en hábitos higiénicos, métodos de preparación y almacenamiento pueden alterar significativamente la composición microbiana de los alimentos. Asimismo, el tiempo transcurrido entre la preparación del alimento y su análisis podría haber influido en la detección de determinados microorganismos, considerando que algunas bacterias pueden multiplicarse o entrar en estado viable no cultivable bajo ciertas condiciones (Fakruddinn, 2013).

CONCLUSIONES

En síntesis, los hallazgos de este estudio demuestran la presencia de bacterias con genes de resistencia a antibióticos en la comida callejera del norte del DMQ. Se identificaron bacterias patógenas oportunistas que son caracterizadas por su amplio reservorio de genes de resistencia y por su elevada capacidad de intercambio genético. Se distinguieron genes de resistencia a varias familias de antibióticos, limitando las opciones de tratamientos en caso de infección de estas bacterias. Es importante recalcar que dentro de estos grupos de antibióticos se encuentran las polimixinas y carbapenémicos, ambos antibióticos de última línea. Este estudio se trata del primer reporte de resistencia a los antibióticos antes mencionados en bacterias provenientes de comida callejera en la ciudad de Quito. Además, la información microbiológica, molecular y genética de los asilados bacterianos demuestran el potencial traspaso de GRAs entre especies bactrianas. Es decir, los genes compartidos entre muestras, alimentos y parques pueden indicar la diseminación de la resistencia a través de la comida. En adición, se encontraron elementos de movilidad genética, mismos que están relacionados a la transferencia horizontal de genes de resistencia a antimicrobianos.

La RAM transmitida por medio de alimentos representa un riesgo sanitario. Por un lado, las bacterias encontradas pueden ser patógenas en humanos, especialmente en aquellos individuos con una respuesta inmunológica débil. Paralelamente, se ha documentado el rol que estas bacterias tienen como reservorios ambientales de genes de resistencia, en especial por su adaptabilidad a varios nichos y por su alta capacidad de transferir y adquirir genes de resistencia antimicrobiana. Estos GRAs pueden diseminarse a otras bacterias de alta prioridad clínica que están compartiendo su mismo ambiente, o también pueden difundirse en la microbiota intestinal; causando así problemas graves de salud.

Esta investigación constituye un aporte fundamental al enfoque *One-Health* en ecuador, al proporcionar información sobre la resistencia antimicrobiana en muestras de alimentos y su relación con la salud humana y ambiental. Los hallazgos revelan una potencial vía de transmisión de microorganismos resistentes a antibióticos a la población;

así como también representa un medio para la diseminación y transferencia de genes de resistencia entre especies bacterianas. Si bien este estudio tiene un alcance limitado, los resultados obtenidos son una base preliminar que confirma la presencia de genes de resistencia antimicrobiana en la comida de venta informal. Además proporciona evidencia científica que puede orientar a nuevas investigaciones. Por último, los hallazgos de esta investigación son una alerta que indica que los mecanismos actuales de vigilancia y prevención no son suficientes y deben ser evaluados.

RECOMENDACIONES

Se recomienda expandir el tamaño de muestra para que sea representativo de la zona de muestreo. De esta forma se puede determinar si se trata de una problemática aislada o de un problema general. Con base en la obtención de datos robustos se pueden plantear acciones generales basadas en la información científica para la mejora en el ámbito de prevención, vigilancia y control. La información obtenida de esta investigación se puede ver enriquecida con la extensión de la zona de muestreo, llegando a más zonas de la ciudad. Asimismo, se puede ampliar la variedad de alimentos analizados, incluyendo alimentos cocidos. Con esto, se busca comprender la interacción de las bacterias resistentes a antimicrobianos que se encuentran circulando en la comida callejera de Quito. Adicionalmente, el muestreo en mercados, establecimientos comerciales de comida, medios de transporte de alimentos y espacios de producción alimentaria pueden ser incluidos para el análisis del rol de la cadena alimenticia en el tema de resistencia antimicrobiana. Por otra parte, el análisis genético se pudo haber visto beneficiado con el complemento de análisis de expresión génica, análisis integral de movilidad genética o estudios con metagenómica. De igual forma, se propone investigar a la resistencia antimicrobiana en otros recursos ambientales, humanos y animales; centrándose en el enfoque *One-Heath* y con la finalidad de encontrar posibles rutas de contaminación. Para ello se recomienda también priorizar el acceso a recursos de investigación científica, lo que permite ampliar el alcance de futuros estudios.

Es de gran importancia reevaluar el sistema actual de vigilancia y prevención de la resistencia antimicrobiana en Ecuador, en vista de los resultados de este estudio que ponen en evidencia las deficiencias en los mecanismos actuales de control. Es fundamental identificar las debilidades del sistema actual para el diseño de mecanismos más efectivos de control. Debido a esto, se recomienda establecer alianzas estratégicas entre instituciones académicas y autoridades. Este estudio, aunque no sea representativo en cuanto al tamaño de muestra, proporciona evidencia clara de un problema que requiere de atención urgente.

Esta investigación fue formulada con la intención de mover a la acción, actuando como un impulso para investigaciones de amplio alcance. Solo con base a este conocimiento será posible diseñar intervenciones prácticas que aborden de manera integral la resistencia antimicrobiana.

REFERENCIAS

Abueg, L. a. L., Afgan, E., Allart, O., Awan, A. H., Bacon, W. A., Baker, D., Bassetti, M., Batut, B., Bernt, M., Blankenberg, D., Bombarely, A., Bretaudeau, A., Bromhead, C. J., Burke, M. L., Capon, P. K., Čech, M., Chavero-Díez, M., Chilton, J. M., Collins, T. J., . . . Zoabi, R. (2024). The Galaxy platform for accessible, reproducible, and collaborative data analyses: 2024 update. Nucleic Acids Research, 52(W1), W83–W94. https://doi.org/10.1093/nar/gkae410

Adegoke, A. A., Stenström, T. A., & Okoh, A. I. (2017). Stenotrophomonas maltophilia as an emerging ubiquitous pathogen: Looking beyond contemporary antibiotic therapy. In Frontiers in Microbiology (Vol. 8, Issue NOV). Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02276

Alam, G. S., Hassan, M. M., Ahaduzzaman, Md., Nath, C., Dutta, P., Khanom, H., Khan, S. A., Pasha, M. R., Islam, A., Magalhaes, R. S., & Cobbold, R. (2023). Molecular Detection of Tetracycline-Resistant Genes in Multi-Drug-Resistant Escherichia coli Isolated from Broiler Meat in Bangladesh. Antibiotics, 12(2), 418. https://doi.org/10.3390/antibiotics12020418

Alelign, D., & Kidanewold, A. (2023). Magnitude of extended-spectrum β-lactamase and carbapenemase producing Enterobacteriaceae among commonly vended street foods in Arba Minch town, southern Ethiopia. BMC Microbiology, 23(1). https://doi.org/10.1186/s12866-023-03137-9

Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W., Lipman, D.J. (1990) “Basic local alignment search tool.” J. Mol. Biol. 215:403-410. PubMed

Amato, H. K., Loayza, F., Salinas, L., Paredes, D., Garcia, D., Sarzosa, S., Saraiva-Garcia, C., Johnson, T. J., Pickering, A. J., Riley, L. W., Trueba, G., & Graham, J. P. (2023). Risk factors for extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing E.

coli carriage among children in a food animal-producing region of Ecuador: A repeated measures observational study. PLOS Medicine, 20(10), e1004299. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1004299

Andersson, D. I., & Hughes, D. (2014). Microbiological effects of sublethal levels of antibiotics. Nature Reviews Microbiology, 12(7), Article 7. https://doi.org/10.1038/nrmicro3270

Annavajhala, M. K., Gomez-Simmonds, A., & Uhlemann, A.-C. (2019). Multidrug-Resistant Enterobacter cloacae Complex Emerging as a Global, Diversifying Threat. Frontiers in Microbiology, 10, 44. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00044

Arzanlou, M., Chai, W. C., & Venter, H. (2017). Intrinsic, adaptive and acquired antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria. Essays in Biochemistry, 61(1), Article 1. https://doi.org/10.1042/EBC20160063

Atter, A., Ofori, H., Anyebuno, G. A., Amoo-Gyasi, M., & Amoa-Awua, W. K. (2015). Safety of a street vended traditional maize beverage, ice-kenkey, in Ghana. Food Control, 55, 200-205. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.02.043

Babines-Orozco, L., Balbuena-Alonso, M. G., Barrios-Villa, E., Lozano-Zarain, P., Martínez-Laguna, Y., Del Carmen Rocha-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), 4-12. https://doi.org/10.12938/bmfh.2023-022

Badau, E. (2021). A One Health perspective on the issue of the antibiotic resistance. Parasite, 28, 16. https://doi.org/10.1051/parasite/2021006

Balkhair, K. S. (2016). Microbial contamination of vegetable crop and soil profile in arid regions under controlled application of domestic wastewater. Saudi Journal of

Biological Sciences, 23(1, Supplement), S83-S92. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.10.029

Banar, M., Sattari-Maraji, A., Bayatinejad, G., Ebrahimi, E., Jabalameli, L., Beigverdi, R., Emaneini, M., & Jabalameli, F. (2023). Global prevalence and antibiotic resistance in clinical isolates of Stenotrophomonas maltophilia: A systematic review and meta-analysis. Frontiers in Medicine, 10, 1163439. https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1163439

Bay, D. C., Stremick, C. A., Slipski, C. J., & Turner, R. J. (2017). Secondary multidrug efflux pump mutants alter Escherichia coli biofilm growth in the presence of cationic antimicrobial compounds. Research in Microbiology, 168(3), 208–221. https://doi.org/10.1016/J.RESMIC.2016.11.003

Bello-López, J. M., Cabrero-Martínez, O. A., Ibáñez-Cervantes, G., Hernández-Cortez, C., Pelcastre-Rodríguez, L. I., Gonzalez-Avila, L. U., & Castro-Escarpulli, G. (2019). Horizontal gene transfer and its association with antibiotic resistance in the genus aeromonas spp. In Microorganisms (Vol. 7, Issue 9). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/microorganisms7090363

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), Article 1. https://doi.org/10.1093/femsre/fux053

Berwa, A., & Caspar, Y. (2024). Easy analysis of bacterial whole-genome sequencing data for clinical microbiologists using open-source Galaxy platform: Characterization of ESBL-producing Enterobacterales from bloodstream infections. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 39, 153–158. https://doi.org/10.1016/j.jgar.2024.08.012

Blair, J. M. A., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. V. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. Nature Reviews Microbiology, 13(1), Article 1. https://doi.org/10.1038/nrmicro3380

Bolger, A.M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina Sequence Data. Bioinformatics, btu170.

Brooke, J. S. (2012). Stenotrophomonas maltophilia: An emerging global opportunistic pathogen. Clinical Microbiology Reviews, 25(1), 2-41. https://doi.org/10.1128/CMR.00019-11

Brooke, J. S. (2021). Advances in the Microbiology of Stenotrophomonas maltophilia. Clinical Microbiology Reviews, 34(3), 10.1128/cmr.00030-19. https://doi.org/10.1128/cmr.00030-19

Busch, A., Homeier-Bachmann, T., Abdel-Glil, M. Y., Hackbart, A., Hotzel, H., & Tomaso, H. (2020). Using affinity propagation clustering for identifying bacterial clades and subclades with whole-genome sequences of Francisella tularensis. PLOS Neglected Tropical Diseases, 14(9), e0008018. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008018

Campos, J., Gil, J., Mourão, J., Peixe, L., & Antunes, P. (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, 206, 1-6. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.016

Cao, H., Bougouffa, S., Park, T.-J., Lau, A., Tong, M.-K., Chow, K.-H., & Ho, P.-L. (2022). Sharing of Antimicrobial Resistance Genes between Humans and Food Animals. mSystems, 7(6), e00775-22. https://doi.org/10.1128/msystems.00775-22

Carrasco, E., Morales-Rueda, A., & García-Gimeno, R. M. (2012). Cross-contamination and recontamination by Salmonella in foods: A review. Food Research International, 45(2), 545-556. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.11.004

CDC. (2024a, noviembre 25). HAIs: Reports and Data. Healthcare-Associated Infections (HAIs). https://www.cdc.gov/healthcare-associated-infections/php/data/index.html

CDC. (2024b, diciembre 11). About Antimicrobial Resistance. Antimicrobial Resistance. https://www.cdc.gov/antimicrobial-resistance/about/index.html

Chang, Y.-T., Lin, C.-Y., Chen, Y.-H., & Hsueh, P.-R. (2015). Update on infections caused by Stenotrophomonas maltophilia with particular attention to resistance mechanisms and therapeutic options. Frontiers in Microbiology, 6, 893. https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00893

Chauhan, A., & Jindal, T. (2020). Microbiological Methods for Environment, Food and Pharmaceutical Analysis. In Microbiological Methods for Environment, Food and Pharmaceutical Analysis. Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-52024-3

Chen, Q., An, X., Li, H., Su, J., Ma, Y., & Zhu, Y.-G. (2016). Long-term field application of sewage sludge increases the abundance of antibiotic resistance genes in soil. Environment International, 92-93, 1-10. https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.03.026

Cho, G.-S., Stein, M., Fiedler, G., Igbinosa, E. O., Koll, L. P., Brinks, E., Rathje, J., Neve, H., & Franz, C. M. A. P. (2021). Polyphasic study of antibiotic-resistant enterobacteria isolated from fresh produce in Germany and description of Enterobacter vonholyi sp. Nov. Isolated from marjoram and Enterobacter dykesii sp. Nov. Isolated from mung bean sprout. Systematic and Applied Microbiology, 44(1), 126174. https://doi.org/10.1016/j.syapm.2020.126174

Chopra, I., & Roberts, M. (2001). Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 65(2), 232-260. https://doi.org/10.1128/MMBR.65.2.232-260.2001

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2024). CLSI M100 *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.* (34th ed.). CLSI guideline M100. Clinical and Laboratory Standards Institute.

Collalto, D., Fortuna, A., Visca, P., Imperi, F., Rampioni, G., & Leoni, L. (2023). Synergistic Activity of Colistin in Combination with Clofoctol against Colistin Resistant Gram-Negative Pathogens. Microbiology Spectrum, 11(2). https://doi.org/10.1128/spectrum.04275-22

Collignon, P., Beggs, J. J., Walsh, T. R., Gandra, S., & Laxminarayan, R. (2018). Anthropological and socioeconomic factors contributing to global antimicrobial resistance: A univariate and multivariable analysis. The Lancet Planetary Health, 2(9), Article 9. https://doi.org/10.1016/S2542-5196(18)30186-4

Cosgrove, S. E. (2006). The Relationship between Antimicrobial Resistance and Patient Outcomes: Mortality, Length of Hospital Stay, and Health Care Costs. Clinical Infectious Diseases, 42(Supplement_2), Article Supplement_2. https://doi.org/10.1086/499406

D'Costa, V. M., McGrann, K. M., Hughes, D. W., & Wright, G. D. (2006). Sampling the Antibiotic Resistome. Science, 311(5759), Article 5759. https://doi.org/10.1126/science.1120800

Davies, J., & Davies, D. (2010). Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 74(3), Article 3. https://doi.org/10.1128/mmbr.00016-10

Davin-Regli, A., Lavigne, J.-P., & Pagès, J.-M. (2019). Enterobacter spp.: Update on Taxonomy, Clinical Aspects, and Emerging Antimicrobial Resistance. Clinical Microbiology Reviews, 32(4), e00002-19. https://doi.org/10.1128/CMR.00002-19

De La Cruz, F., Frost, L. S., Meyer, R. J., & Zechner, E. L. (2010). Conjugative DNA metabolism in Gram-negative bacteria. In FEMS Microbiology Reviews (Vol. 34, Issue 1, pp. 18–40). https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00195.x

Ding, T., Suo, Y., Zhang, Z., Liu, D., Ye, X., Chen, S., & Zhao, Y. (2017). A multiplex RT-PCR assay for S. aureus, L. monocytogenes, and Salmonella spp. detection in raw milk with pre-enrichment. Frontiers in Microbiology, 8(MAY). https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00989

Dorado-García, A., Smid, J. H., van Pelt, W., Bonten, M. J. M., Fluit, A. C., van den Bunt, G., Wagenaar, J. A., Hordijk, J., Dierikx, C. M., Veldman, K. T., de Koeijer, A., Dohmen, W., Schmitt, H., Liakopoulos, A., Pacholewicz, E., Lam, T. J. G. M., Velthuis, A. G., Heuvelink, A., Gonggrijp, M. A., … Heederik, D. J. J. (2018). Molecular relatedness of ESBL/AmpC-producing Escherichia coli from humans, animals, food and the environment: A pooled analysis. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 73(2), 339-347. https://doi.org/10.1093/jac/dkx397

Egwuatu, T. O., Ogunsola, F. T., Okodugha, I. M., Jide, B., Arewa, D. G., & Osinupebi, O. A. (2014). Effect of Blood Agar from Different Animal Blood on Growth Rates and Morphology of Common Pathogenic Bacteria. Advances in Microbiology, 04(16), 1237–1241. https://doi.org/10.4236/aim.2014.416133

El'Garch, F., Jeannot, K., Hocquet, D., Llanes-Barakat, C., & Plésiat, P. (2007). Cumulative Effects of Several Nonenzymatic Mechanisms on the Resistance of Pseudomonas aeruginosa to Aminoglycosides. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 51(3), Article 3. https://doi.org/10.1128/aac.00704-06

Fabre, V., Secaira, C., Herzig, C., Bancroft, E., Bernachea, M. P., Galarza, L. A., Aquiles, B., Arauz, A. B., Bangher, M. D. C., Bernan, M. L., Burokas, S., Canton, A., Cazali, I. L., Colque, A., Comas, M., Contreras, R. V., Cornistein, W., Cordoba, M. G., Correa, S. M., … Quiros, R. E. (2024). Contextual barriers to infection prevention and control program implementation in hospitals in Latin America: A mixed methods evaluation. Antimicrobial Resistance & Infection Control, 13(1), Article 1. https://doi.org/10.1186/s13756-024-01484-4

Fakruddin, Md., Mannan, K. S. B., & Andrews, S. (2013). Viable but Nonculturable Bacteria: Food Safety and Public Health Perspective. ISRN Microbiology, 2013, 703813. https://doi.org/10.1155/2013/703813

Feng, Z., Liu, D., Wang, L., Wang, Y., Zang, Z., Liu, Z., Song, B., Gu, L., Fan, Z., Yang, S., Chen, J., & Cui, Y. (2020). A Putative Efflux Transporter of the ABC Family, YbhFSR, in Escherichia coli Functions in Tetracycline Efflux and Na+(Li+)/H+ Transport. Frontiers in Microbiology, 11. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00556

Fernández, L., & Hancock, R. E. W. (2012). Adaptive and Mutational Resistance: Role of Porins and Efflux Pumps in Drug Resistance. Clinical Microbiology Reviews, 25(4), Article 4. https://doi.org/10.1128/CMR.00043-12

Fernández-Trapote, E., Oliveira, M., Cobo-Díaz, J. F., & Alvarez-Ordóñez, A. (2024). The resistome of the food chain: A One Health perspective. Microbial Biotechnology, 17(7), e14530. https://doi.org/10.1111/1751-7915.14530

Flores-Carrero, A., Labrador, I., Paniz-Mondolfi, A., Peaper, D. R., Towle, D., & Araque, M. (2016). Nosocomial outbreak of extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacter ludwigii co-harbouring CTX-M-8, SHV-12 and TEM-15 in a neonatal intensive care unit in Venezuela. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 7, 114-118. https://doi.org/10.1016/j.jgar.2016.08.006

Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2021). The FAO Action Plan on Antimicrobial Resistance 2021–2025. FAO. https://doi.org/10.4060/cb5545en

Forsberg, K. J., Reyes, A., Wang, B., Selleck, E. M., Sommer, M. O. A., & Dantas, G. (2012). The Shared Antibiotic Resistome of Soil Bacteria and Human Pathogens. Science, 337(6098), 1107-1111. https://doi.org/10.1126/science.1220761

Fusaro, C., Miranda-Madera, V., Serrano-Silva, N., Bernal, J. E., Ríos-Montes, K., González-Jiménez, F. E., Ojeda-Juárez, D., & Sarria-Guzmán, Y. (2024). Antibiotic-Resistant Bacteria Isolated from Street Foods: A Systematic Review. Antibiotics, 13(6), Article 6. https://doi.org/10.3390/antibiotics13060481

Gabela, M. P., & Secaira, J. W. T. (s. f.). PROYECTO PARA LA PREVENCIÓN DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS.

Gaurav, A., Bakht, P., Saini, M., Pandey, S., & Pathania, R. (2023). Role of bacterial efflux pumps in antibiotic resistance, virulence, and strategies to discover novel efflux pump inhibitors. Microbiology, 169(5), Article 5. https://doi.org/10.1099/mic.0.001333

Ghaffar, H., Zafar, S., Iqbal, Z., Fatima, G., Naz, S., Faiz, F. A., Ali, G., Ashraf, A., & Khalil, D. N. (2023). Antimicrobial Activity of Gram Negative Bacteria in Blood Cultures: A Study with Blood Agar in ICU of LGH, Lahore. Pakistan Journal of Medical and Health Sciences, 17(3), 182–184. https://doi.org/10.53350/pjmhs2023173182

Gill, M. M., Usman, J., Hassan, A., Kaleem, F., & Anjum, R. (2015). In vitro efficacy of meropenem, colistin and tigecycline against the extended spectrum beta-lactamase producing Gram negative bacilli. Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan, 25(5), 342–345.

Gill, M. M., Usman, J., Hassan, A., Kaleem, F., & Shaheen, N. (2015). IN VITRO SUSCEPTIBILITY PATTERN OF EXTENDED SPECTRUM β-LACTAMASE PRODUCING GRAM NEGATIVE BACILLI AGAINST TETRACYCLINES. Journal of Ayub Medical College, Abbottabad : JAMC, 27(4), 788–790.

Giri, S., Kudva, V., Shetty, K., & Shetty, V. (2021). Prevalence and Characterization of Extended-Spectrum ?-Lactamase-Producing Antibiotic-Resistant Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in Ready-to-Eat Street Foods. Antibiotics, 10(7), Article 7. https://doi.org/10.3390/antibiotics10070850

Godmer, A., Benzerara, Y., Normand, A. C., Veziris, N., Gallah, S., Eckert, C., Morand, P., Piarroux, R., & Aubry, A. (2021). Revisiting Species Identification within the Enterobacter cloacae Complex by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry. Microbiology Spectrum, 9(1). https://doi.org/10.1128/spectrum.00661-21

Goyal, N., Gangar, S., Grover, M., Singh, N. P., Dwivedi, A. N., Varshney, A., Chaudhary, D., & Arya, N. (2023). A comparative evaluation of colistin Minimum Inhibitory Concentration determination by reference broth microdilution with other commonly used phenotypic methods in Multidrug-Resistant Gram-negative bacilli. Microbiologia Medica, 38(2). https://doi.org/10.4081/mm.2023.11573

Gudda, F. O., Waigi, M. G., Odinga, E. S., Yang, B., Carter, L., & Gao, Y. (2020). Antibiotic-contaminated wastewater irrigated vegetables pose resistance selection risks to the gut microbiome. Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987), 264, 114752. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114752

Gülen, D., Şafak, B., Erdal, B., & Günaydın, B. (2021). Curcumin-meropenem synergy in carbapenem resistant Klebsiella pneumoniae curcumin-meropenem synergy. Iranian Journal of Microbiology, 13(3), 345–351. http://ijm.tums.ac.ir

Gurevich, A., Saveliev, V., Vyahhi, N., & Tesler, G. (2013). QUAST: quality assessment tool for genome assemblies. Bioinformatics, 29(8), 1072–1075. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt086

Harmon, D. E., Miranda, O. A., McCarley, A., Eshaghian, M., Carlson, N., & Ruiz, C. (2019). Prevalence and characterization of carbapenem-resistant bacteria in water bodies in the Los Angeles–Southern California area. MicrobiologyOpen, 8(4), e00692. https://doi.org/10.1002/mbo3.692

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), Article 2. https://doi.org/10.3390/microorganisms9020207

Hendriksen, R. S., Cavaco, L. M., Guerra, B., Bortolaia, V., Agersø, Y., Svendsen, C. A., Nielsen, H. N., Kjeldgaard, J. S., Pedersen, S. K., Fertner, M., & Hasman, H. (2023). Evaluation and validation of laboratory procedures for the surveillance of ESBL-, AmpC-, and carbapenemase-producing Escherichia coli from fresh meat and caecal samples. Frontiers in Microbiology, 14. https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1229542

Hernando-Amado, S., Coque, T. M., Baquero, F., & Martínez, J. L. (2019). Defining and combating antibiotic resistance from One Health and Global Health perspectives. Nature Microbiology, 4(9), 1432-1442. https://doi.org/10.1038/s41564-019-0503-9

Heuser, E., Becker, K., & Idelevich, E. A. (2023). Evaluation of an Automated System for the Counting of Microbial Colonies. Microbiology Spectrum, 11(4). https://doi.org/10.1128/spectrum.00673-23

Hillock, N. T., Merlin, T. L., Turnidge, J., & Karnon, J. (2022). Modelling the Future Clinical and Economic Burden of Antimicrobial Resistance: The Feasibility and

Value of Models to Inform Policy. Applied Health Economics and Health Policy, 20(4), 479-486. https://doi.org/10.1007/s40258-022-00728-x

Hoffmann, H., Stindl, S., Stumpf, A., Mehlen, A., Monget, D., Heesemann, J., Schleifer, K. H., & Roggenkamp, A. (2005). Description of Enterobacter ludwigii sp. nov., a novel Enterobacter species of clinical relevance. Systematic and Applied Microbiology, 28(3), 206–212. https://doi.org/10.1016/J.SYAPM.2004.12.009

Hoffmann, M., Luo, Y., Monday, S. R., Gonzalez-Escalona, N., Ottesen, A. R., Muruvanda, T., Wang, C., Kastanis, G., Keys, C., Janies, D., Senturk, I. F., Catalyurek, U. V., Wang, H., Hammack, T. S., Wolfgang, W. J., Schoonmaker-Bopp, D., Chu, A., Myers, R., Haendiges, J., … Brown, E. W. (2016). Tracing Origins of the Salmonella Bareilly Strain Causing a Food-borne Outbreak in the United States. The Journal of Infectious Diseases, 213(4), 502-508. https://doi.org/10.1093/infdis/jiv297

Holmes, A. H., Moore, L. S. P., Sundsfjord, A., Steinbakk, M., Regmi, S., Karkey, A., Guerin, P. J., & Piddock, L. J. V. (2016). Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. The Lancet, 387(10014), Article 10014. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00473-0

Huang, L., Wu, C., Gao, H., Xu, C., Dai, M., Huang, L., Hao, H., Wang, X., & Cheng, G. (2022). Bacterial Multidrug Efflux Pumps at the Frontline of Antimicrobial Resistance: An Overview. In Antibiotics (Vol. 11, Issue 4). MDPI. https://doi.org/10.3390/antibiotics11040520

Huddleston, J. R. (2014). Horizontal gene transfer in the human gastrointestinal tract: Potential spread of antibiotic resistance genes. Infection and Drug Resistance, 7, 167-176. https://doi.org/10.2147/IDR.S48820

Huijbers, P. M. C., Blaak, H., de Jong, M. C. M., Graat, E. A. M., Vandenbroucke-Grauls, C. M. J. E., & de Roda Husman, A. M. (2015). Role of the Environment in the

Transmission of Antimicrobial Resistance to Humans: A Review. Environmental Science & Technology, 49(20), 11993-12004. https://doi.org/10.1021/acs.est.5b02566

Humphries, R., Bobenchik, A. M., Hindler, J. A., & Schuetz, A. N. (2021). Overview of Changes to the Clinical and Laboratory Standards Institute Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, M100, 31st Edition. https://www.fda.gov/drugs/development-resources/antibacterial-susceptibility-test-interpretive-criteria

International Organization for Standardization. (2017). ISO 6887-1:2017: Microbiology of the food chain — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions. https://www.iso.org

Jain, C., Rodriguez-R, L. M., Phillippy, A. M., Konstantinidis, K. T., & Aluru, S. (2018). High throughput ANI analysis of 90K prokaryotic genomes reveals clear species boundaries. Nature Communications, 9(1), 5114. https://doi.org/10.1038/s41467-018-07641-9

Jans, C., Sarno, E., Collineau, L., Meile, L., Stärk, K. D. C., & Stephan, R. (2018). Consumer Exposure to Antimicrobial Resistant Bacteria From Food at Swiss Retail Level. Frontiers in Microbiology, 9. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00362

Jarlier, V., Nicolas, M.-H., Fournier, G., & Philippon, A. (1988). Extended Broad-Spectrum β-Lactamases Conferring Transferable Resistance to Newer β-Lactam Agents in Enterobacteriaceae: Hospital Prevalence and Susceptibility Patterns. Reviews of Infectious Diseases, 10(4), 867–878. https://doi.org/10.1093/clinids/10.4.867

Jia, B., Raphenya, A. R., Alcock, B., Waglechner, N., Guo, P., Tsang, K. K., Lago, B. A., Dave, B. M., Pereira, S., Sharma, A. N., Doshi, S., Courtot, M., Lo, R., Williams,

L. E., Frye, J. G., Elsayegh, T., Sardar, D., Westman, E. L., Pawlowski, A. C., . . . McArthur, A. G. (2016). CARD 2017: expansion and model-centric curation of the comprehensive antibiotic resistance database. Nucleic Acids Research, 45(D1), D566–D573. https://doi.org/10.1093/nar/gkw1004

Karanika, S., Karantanos, T., Arvanitis, M., Grigoras, C., & Mylonakis, E. (2016). Fecal Colonization With Extended-spectrum Beta-lactamase-Producing Enterobacteriaceae and Risk Factors Among Healthy Individuals: A Systematic Review and Metaanalysis. Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America, 63(3), 310-318. https://doi.org/10.1093/cid/ciw283

Klein, E. Y., Van Boeckel, T. P., Martinez, E. M., Pant, S., Gandra, S., Levin, S. A., Goossens, H., & Laxminarayan, R. (2018). Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. Proceedings of the National Academy of Sciences, 115(15), Article 15. https://doi.org/10.1073/pnas.1717295115

Konstantinidis, K. T., & DeLong, E. F. (2008). Genomic patterns of recombination, clonal divergence and environment in marine microbial populations. The ISME Journal, 2(10), 1052-1065. https://doi.org/10.1038/ismej.2008.62

Landers, T. F., Mollenkopf, D. F., Faubel, R. L., Dent, A., Pancholi, P., Daniels, J. B., & Wittum, T. E. (2017). Extended-Spectrum β-lactam Resistance in the Enteric Flora of Patients at a Tertiary Care Medical Centre. Zoonoses and Public Health, 64(2), 161–164. https://doi.org/10.1111/zph.12293

Langdon, A., Crook, N., & Dantas, G. (2016). The effects of antibiotics on the microbiome throughout development and alternative approaches for therapeutic modulation. Genome Medicine, 8, 39. https://doi.org/10.1186/s13073-016-0294-z

Laurens, C., Jean-Pierre, H., Licznar-Fajardo, P., Hantova, S., Godreuil, S., Martinez, O., & Jumas-Bilak, E. (2018). Transmission of IMI-2 carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from river water to human. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 15, 88-92. https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.06.022

Laxminarayan, R., Duse, A., Wattal, C., Zaidi, A. K. M., Wertheim, H. F. L., Sumpradit, N., Vlieghe, E., Hara, G. L., Gould, I. M., Goossens, H., Greko, C., So, A. D., Bigdeli, M., Tomson, G., Woodhouse, W., Ombaka, E., Peralta, A. Q., Qamar, F. N., Mir, F., … Cars, O. (2013). Antibiotic resistance—The need for global solutions. The Lancet Infectious Diseases, 13(12), Article 12. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70318-9

Ledeboer, N. A., Lopansri, B. K., Dhiman, N., Cavagnolo, R., Carroll, K. C., Granato, P., Thomson, R., Butler-Wu, S. M., Berger, H., Samuel, L., Pancholi, P., Swyers, L., Hansen, G. T., Tran, N. K., Polage, C. R., Thomson, K. S., Hanson, N. D., Winegar, R., & Buchan, B. W. (2015). Identification of Gram-negative bacteria and genetic resistance determinants from positive blood culture broths by use of the verigene Gram-negative blood culture multiplex microarray-based molecular assay. Journal of Clinical Microbiology, 53(8), 2460–2472. https://doi.org/10.1128/JCM.00581-15

Lee, K., Murphy, J., & Tripathi, A. (2022). Electro-DBS: A Simple Method to Rapidly Extract Genomic DNA from Dried Blood Spots. Analytical Chemistry, 94(39), 13404–13412. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.2c02021

Lezameta, L., Gonzáles-Escalante, E., & Tamariz, J. H. (2010). Comparison of four phenotypic methods to detect extended-spectrum betalactamases | Comparación de cuatro métodos fenotípicos para la detección de beta-lactamasas de espectro extendido. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica, 27(3), 345–351. https://doi.org/10.1590/S1726-46342010000300006

Li, J., Zhang, H., Ning, J., Sajid, A., Cheng, G., Yuan, Z., & Hao, H. (2019). The nature and epidemiology of OqxAB, a multidrug efflux pump. In Antimicrobial Resistance and Infection Control (Vol. 8, Issue 1). BioMed Central Ltd. https://doi.org/10.1186/s13756-019-0489-3

Li, Y., Cao, W., Liang, S., Yamasaki, S., Chen, X., Shi, L., & Ye, L. (2020). Metagenomic characterization of bacterial community and antibiotic resistance genes in representative ready-to-eat food in southern China. Scientific Reports, 10(1), 15175. https://doi.org/10.1038/s41598-020-72620-4

Liebana, E., Carattoli, A., Coque, T. M., Hasman, H., Magiorakos, A.-P., Mevius, D., Peixe, L., Poirel, L., Schuepbach-Regula, G., Torneke, K., Torren-Edo, J., Torres, C., & Threlfall, J. (2013). Public Health Risks of Enterobacterial Isolates Producing Extended-Spectrum β-Lactamases or AmpC β-Lactamases in Food and Food-Producing Animals: An EU Perspective of Epidemiology, Analytical Methods, Risk Factors, and Control Options. Clinical Infectious Diseases, 56(7), Article 7. https://doi.org/10.1093/cid/cis1043

Lipszyc, A., Szuplewska, M., & Bartosik, D. (2022). How Do Transposable Elements Activate Expression of Transcriptionally Silent Antibiotic Resistance Genes? International Journal of Molecular Sciences, 23(15), 8063. https://doi.org/10.3390/ijms23158063

Liu, Y.-Y., Wang, Y., Walsh, T. R., Yi, L.-X., Zhang, R., Spencer, J., Doi, Y., Tian, G., Dong, B., Huang, X., Yu, L.-F., Gu, D., Ren, H., Chen, X., Lv, L., He, D., Zhou, H., Liang, Z., Liu, J.-H., & Shen, J. (2016). Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: A microbiological and molecular biological study. The Lancet Infectious Diseases, 16(2), Article 2. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7

Lupo, A., Coyne, S., & Berendonk, T. U. (2012). Origin and Evolution of Antibiotic Resistance: The Common Mechanisms of Emergence and Spread in Water Bodies. Frontiers in Microbiology, 3, 18. https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00018

Margot, H., Zwietering, M. H., Joosten, H., O'Mahony, E., & Stephan, R. (2015). Evaluation of different buffered peptone water (BPW) based enrichment broths for detection of Gram-negative foodborne pathogens from various food matrices. International Journal of Food Microbiology, 214, 109–115. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.07.033

Martínez, J. L., & Baquero, F. (2014). Emergence and spread of antibiotic resistance: Setting a parameter space. Upsala Journal of Medical Sciences, 119(2), Article 2. https://doi.org/10.3109/03009734.2014.901444

Martínez, J. L., Coque, T. M., & Baquero, F. (2015). What is a resistance gene? Ranking risk in resistomes. Nature Reviews Microbiology, 13(2), Article 2. https://doi.org/10.1038/nrmicro3399

Mazumder, R., Hussain, A., Phelan, J. E., Campino, S., Haider, S. M. A., Mahmud, A., Ahmed, D., Asadulghani, M., Clark, T. G., & Mondal, D. (2022). Non-lactose fermenting Escherichia coli: Following in the footsteps of lactose fermenting E. coli high-risk clones. Frontiers in Microbiology, 13. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1027494

McEwen, S. A., & Collignon, P. J. (2018). Antimicrobial Resistance: A One Health Perspective. Microbiology Spectrum, 6(2), Article 2. https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0009-2017

Mezzatesta, M. L., Gona, F., & Stefani, S. (2012). Enterobacter cloacae complex: Clinical impact and emerging antibiotic resistance. Future Microbiology, 7(7), 887-902. https://doi.org/10.2217/fmb.12.61

Minh, B. Q., Schmidt, H. A., Chernomor, O., Schrempf, D., Woodhams, M. D., von Haeseler, A., & Lanfear, R. (2020). IQ-TREE 2: New Models and Efficient Methods for Phylogenetic Inference in the Genomic Era. Molecular Biology and Evolution, 37(5), 1530-1534. https://doi.org/10.1093/molbev/msaa015

Mishra, S. K., & Agrawal, D. (2012). Gram-Negative Bacilli. In A Concise Manual of Pathogenic Microbiology (pp. 69–82). https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9781118301234.ch9

Miyoshi-Akiyama, T., Hayakawa, K., Ohmagari, N., Shimojima, M., & Kirikae, T. (2013). Multilocus Sequence Typing (MLST) for Characterization of Enterobacter cloacae. PLoS ONE, 8(6), e66358. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066358

Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. Microbiology Spectrum, 4(2), Article 2. https://doi.org/10.1128/microbiolspec.vmbf-0016-2015

Murray, C. J. L., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Aguilar, G. R., Gray, A., Han, C., Bisignano, C., Rao, P., Wool, E., Johnson, S. C., Browne, A. J., Chipeta, M. G., Fell, F., Hackett, S., Haines-Woodhouse, G., Hamadani, B. H. K., Kumaran, E. A. P., McManigal, B., … Naghavi, M. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: A systematic analysis. The Lancet, 399(10325), Article 10325. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0

National Center for Biotechnology Information. (2016). Enterobacter ludwigii strain MBRL51, whole genome shotgun sequencing project (Assembly ASM175072v1). National Library of Medicine (US). Retrieved from https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCA_N001750725.1

Nepali, B., Bhattarai, S., & Shrestha, J. (2018). Identification of Pseudomonas fluorescens using different biochemical tests. Internacional Journal of Applied Biology. http://journal.unhas.ac.id/index.php/ijoab

Nero, T. M., Dalia, T. N., Wang, J. C. Y., Kysela, D. T., Bochman, M. L., & Dalia, A. B. (2018). ComM is a hexameric helicase that promotes branch migration during natural transformation in diverse Gram-negative species. Nucleic Acids Research, 46(12), 6099–6111. https://doi.org/10.1093/nar/gky343

Nguyen-Viet, H., Tuyet-Hanh, T. T., Unger, F., Dang-Xuan, S., & Grace, D. (2017). Food safety in Vietnam: Where we are at and what we can learn from international experiences. Infectious Diseases of Poverty, 6(1), 39. https://doi.org/10.1186/s40249-017-0249-7

Nicolas, E., Lambin, M., Dandoy, D., Galloy, C., Nguyen, N., Oger, C. A., & Hallet, B. (2015). The Tn3-family of Replicative Transposons. Microbiology Spectrum, 3(4). https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MDNA3-0060-2014

Nizame, F. A., Alam, M. U., Masud, A. A., Shoab, A. K., Opel, A., Islam, M. K., Luby, S. P., & Unicomb, L. (2019). Hygiene in Restaurants and among Street Food Vendors in Bangladesh. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 101(3), 566-575. https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0896

Nnadozie, C. F., & Odume, O. N. (2019). Freshwater environments as reservoirs of antibiotic resistant bacteria and their role in the dissemination of antibiotic resistance genes. Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987), 254(Pt B), 113067. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113067

O'Neill, J. (2016). Tackling drug-resistant infections globally: Final report and recommendations (United Kingdom) [Report]. Government of the United Kingdom. https://apo.org.au/node/63983

O'Rourke, A., Beyhan, S., Choi, Y., Morales, P., Chan, A. P., Espinoza, J. L., Dupont, C. L., Meyer, K. J., Spoering, A., Lewis, K., Nierman, W. C., & Nelson, K. E. (2020). Mechanism-of-Action Classification of Antibiotics by Global Transcriptome

Profiling. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 64(3), 10.1128/aac.01207-19. https://doi.org/10.1128/aac.01207-19

OECD. (2018, noviembre 7). Stemming the Superbug Tide: Just A Few Dollars More. OECD. https://doi.org/10.1787/9789264307599-en

Organización Mundial de la Salud. (2016). Global action plan on antimicrobial resistance. https://www.who.int/publications/i/item/9789241509763

Organización Mundial de la Salud. (2021, noviembre 17). Resistencia a los antimicrobianos. Organización Munidal de la Salud. https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance

Ortega-Paredes, D., Barba, P., Mena-López, S., Espinel, N., & Zurita, J. (2018). Escherichia coli hyperepidemic clone ST410-A harboring blaCTX-M-15 isolated from fresh vegetables in a municipal market in Quito-Ecuador. International Journal of Food Microbiology, 280, 41-45. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.04.037

Ortega-Paredes, D., Haro, M., Leoro-Garzón, P., Barba, P., Loaiza, K., Mora, F., Fors, M., Vinueza-Burgos, C., & Fernández-Moreira, E. (2019). Multidrug-resistant Escherichia coli isolated from canine faeces in a public park in Quito, Ecuador. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 18, 263-268. https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.04.002

Page, A. J., Cummins, C. A., Hunt, M., Wong, V. K., Reuter, S., Holden, M. T. G., Fookes, M., Falush, D., Keane, J. A., & Parkhill, J. (2015). Roary: rapid large-scale prokaryote pan genome analysis. Bioinformatics, 31(22), 3691–3693. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv421

Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T.-J., & Cheng, Z. (2019). Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa: Mechanisms and alternative therapeutic strategies.

Biotechnology Advances, 37(1), 177-192. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.013

Parmeland, L., Bourru, T., Kyungu, V., Rousseau, N., Gleize, M., De Beauvoir, C., & Pecquet, M. (2021). A rapid and inexpensive protocol to screen for third generation cephalosporin-resistant and non-fermenting Gram-negative rods directly in positive blood cultures. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 101(2), 115428. https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2021.115428

Partridge, S. R., Kwong, S. M., Firth, N., & Jensen, S. O. (2018). Mobile Genetic Elements Associated with Antimicrobial Resistance. Clinical Microbiology Reviews, 31(4), Article 4. https://doi.org/10.1128/cmr.00088-17

Paudyal, N., Anihouvi, V., Hounhouigan, J., Matsheka, M. I., Sekwati-Monang, B., Amoa-Awua, W., Atter, A., Ackah, N. B., Mbugua, S., Asagbra, A., Abdelgadir, W., Nakavuma, J., Jakobsen, M., & Fang, W. (2017). Prevalence of foodborne pathogens in food from selected African countries – A meta-analysis. International Journal of Food Microbiology, 249, 35-43. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.03.002

Pfeiffer, F., Zamora-Lagos, M.-A., Blettinger, M., Yeroslaviz, A., Dahl, A., Gruber, S., & Habermann, B. (2018). The complete and fully assembled genome sequence of Aeromonas salmonicida subsp. pectinolytica and its comparative analysis with other Aeromonas species: Investigation of the mobilome in environmental and pathogenic strains. BMC Genomics, 19(1), 20. https://doi.org/10.1186/s12864-017-4301-6

Piccirilli, A., Pompilio, A., Rossi, L., Segatore, B., Amicosante, G., Rosatelli, G., Perilli, M., & Di Bonaventura, G. (2019). Identification of CTX-M-15 and CTX-M-27 in Antibiotic-Resistant Gram-Negative Bacteria Isolated from Three Rivers Running

in Central Italy. Microbial Drug Resistance, 25(7), 1041-1049. https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0016

Pompilio, A., Pomponio, S., Crocetta, V., Gherardi, G., Verginelli, F., Fiscarelli, E., Dicuonzo, G., Savini, V., D'Antonio, D., & Di Bonaventura, G. (2011). Phenotypic and genotypic characterization of Stenotrophomonas maltophiliaisolates from patients with cystic fibrosis: Genome diversity, biofilm formation, and virulence. BMC Microbiology, 11(1), 159. https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-159

Prjibelski, A., Antipov, D., Meleshko, D., Lapidus, A., & Korobeynikov, A. (2020). Using SPAdes de novo assembler. Current Protocols in Bioinformatics, 70(1). https://doi.org/10.1002/cpbi.102

Procop, G. W., Church, D. L., Hall, G. S., Janda, W. M., Koneman, E. W., Schreckenberger, P., & Woods, G. L. (2017). Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology (J. Larkin & J. Joyce, Eds.; Seventh Edition). Wolters Kluwer.

Qian, J., Wu, Z., Ma, L., Zhu, Y., Zhang, Y., Li, M., Guo, X., & Liu, C. (2025). Metagenomic insights into correlation of microbiota and antibiotic resistance genes in the worker-pig-soil interface: A One Health surveillance on Chongming Island, China. Journal of Hazardous Materials Advances, 18, 100648. https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2025.100648

Quainoo, S., Coolen, J. P. M., van Hijum, S. A. F. T., Huynen, M. A., Melchers, W. J. G., van Schaik, W., & Wertheim, H. F. L. (2017). Whole-Genome Sequencing of Bacterial Pathogens: The Future of Nosocomial Outbreak Analysis. Clinical Microbiology Reviews, 30(4), 1015-1063. https://doi.org/10.1128/CMR.00016-17

Rafiq, K., Islam, M. R., Siddiky, N. A., Samad, M. A., Chowdhury, S., Hossain, K. M. M., Rume, F. I., Hossain, M. K., Mahbub-E-Elahi, A., Ali, M. Z., Rahman, M., Amin, M. R., Masuduzzaman, M., Ahmed, S., Ara Rumi, N., & Hossain, M. T. (2022).

Antimicrobial Resistance Profile of Common Foodborne Pathogens Recovered from Livestock and Poultry in Bangladesh. Antibiotics, 11(11), 1551. https://doi.org/10.3390/antibiotics11111551

Rana, C., Vikas, V., Awasthi, S., Gautam, D., Vats, A., Rajput, S., Behera, M., Ludri, A., Berwal, A., Singh, D., & De, S. (2024). Antimicrobial resistance genes and associated mobile genetic elements in Escherichia coli from human, animal and environment. Chemosphere, 369, 143808. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.143808

Ransom, E. M., Alipour, Z., Wallace, M. A., & Burnham, C.-A. D. (2021). Evaluation of Optimal Blood Culture Incubation Time To Maximize Clinically Relevant Results from a Contemporary Blood Culture Instrument and Media System. Journal of Clinical Microbiology, 59(3). https://journals.asm.org/journal/jcm

Robinson, T. P., Bu, D. P., Carrique-Mas, J., Fèvre, E. M., Gilbert, M., Grace, D., Hay, S. I., Jiwakanon, J., Kakkar, M., Kariuki, S., Laxminarayan, R., Lubroth, J., Magnusson, U., Thi Ngoc, P., Van Boeckel, T. P., & Woolhouse, M. E. J. (2016). Antibiotic resistance is the quintessential One Health issue. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 110(7), Article 7. https://doi.org/10.1093/trstmh/trw048

Rossi, F., Santonicola, S., Amadoro, C., Marino, L., & Colavita, G. (2023). Recent Records on Bacterial Opportunistic Infections via the Dietary Route. Microorganisms, 12(1), 69. https://doi.org/10.3390/microorganisms12010069

Samtiya, M., Matthews, K. R., Dhewa, T., & Puniya, A. K. (2022). Antimicrobial Resistance in the Food Chain: Trends, Mechanisms, Pathways, and Possible Regulation Strategies. Foods, 11(19), Article 19. https://doi.org/10.3390/foods11192966

Satán, C., Satyanarayana, S., Shringarpure, K., Mendoza-Ticona, A., Palanivel, C., Jaramillo, K., Villavicencio, F., Davtyan, H., & Esparza, G. (2023). Epidemiology of antimicrobial resistance in bacteria isolated from inpatient and outpatient samples, Ecuador, 2018. Revista Panamericana de Salud Pública, 47, 1. https://doi.org/10.26633/RPSP.2023.14

Scales, B. S., Dickson, R. P., LiPuma, J. J., & Huffnagle, G. B. (2014). Microbiology, Genomics, and Clinical Significance of the Pseudomonas fluorescens Species Complex, an Unappreciated Colonizer of Humans. Clinical Microbiology Reviews, 27(4), 927-948. https://doi.org/10.1128/CMR.00044-14

Seemann T (2015) snippy: fast bacterial variant calling from NGS reads.

Seemann, T. (2014). Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. Bioinformatics, 30(14), 2068–2069. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu153

Seemann, T. (2016). ABRicate: mass screening of contigs for antiobiotic resistance genes. https://github.com/tseemann/abricate.

Sharland, M., Pulcini, C., Harbarth, S., Zeng, M., Gandra, S., Mathur, S., & Magrini, N. (2018). Classifying antibiotics in the WHO Essential Medicines List for optimal use—Be AWaRe. The Lancet Infectious Diseases, 18(1), Article 1. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30724-7

Shintani, M., Vestergaard, G., Milaković, M., Kublik, S., Smalla, K., Schloter, M., & Udiković-Kolić, N. (2023). Integrons, transposons and IS elements promote diversification of multidrug resistance plasmids and adaptation of their hosts to antibiotic pollutants from pharmaceutical companies. Environmental Microbiology, 25(12), 3035-3051. https://doi.org/10.1111/1462-2920.16481

Siguier, P., Gourbeyre, E., & Chandler, M. (2014). Bacterial insertion sequences: Their genomic impact and diversity. FEMS Microbiology Reviews, 38(5), 865-891. https://doi.org/10.1111/1574-6976.12067

Silverio, M. P., Kraychete, G. B., Rosado, A. S., & Bonelli, R. R. (2022). Pseudomonas fluorescens Complex and Its Intrinsic, Adaptive, and Acquired Antimicrobial Resistance Mechanisms in Pristine and Human-Impacted Sites. In Antibiotics (Vol. 11, Issue 8). MDPI. https://doi.org/10.3390/antibiotics11080985

Silverio, M. P., Schultz, J., Parise, M. T. D., Parise, D., Viana, M. V. C., Nogueira, W., Ramos, R. T. J., Góes-Neto, A., Azevedo, V. A. D. C., Brenig, B., Bonelli, R. R., & Rosado, A. S. (2025). Genomic and phenotypic insight into antimicrobial resistance of Pseudomonas fluorescens from King George Island, Antarctica. Frontiers in Microbiology, 16. https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1535420

Sivakumar, M., Abass, G., Vivekanandhan, R., Anukampa, Singh, D. K., Bhilegaonkar, K., Kumar, S., Grace, M. R., & Dubal, Z. (2021). Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing and multidrug-resistant Escherichia coli in street foods: A public health concern. Journal of Food Science and Technology, 58(4), Article 4. https://doi.org/10.1007/s13197-020-04634-9

Sommer, M. O. A., Munck, C., Toft-Kehler, R. V., & Andersson, D. I. (2017). Prediction of antibiotic resistance: Time for a new preclinical paradigm? Nature Reviews Microbiology, 15(11), 689-696. https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.75

Soucy, S. M., Huang, J., & Gogarten, J. P. (2015). Horizontal gene transfer: Building the web of life. Nature Reviews Genetics, 16(8), Article 8. https://doi.org/10.1038/nrg3962

Sun, J., Deng, Z., & Yan, A. (2014). Bacterial multidrug efflux pumps: Mechanisms, physiology and pharmacological exploitations. Biochemical and Biophysical

Research Communications, 453(2), Article 2. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.05.090

Tamayo, F. (2023). GERENCIA DE ADMINISTRACIÓN DE PARQUES Y ESPACIOS VERDES INFORME TÉCNICO. https://www7.quito.gob.ec/mdmq_ordenanzas/Administraci%C3%B3n%202019-2023/Sesiones%20de%20Concejo/2023/Sesi%C3%B3n%20281%20Ordinaria%202023-05-02/IV.%20Informe%20de%20Propiedad/IV.1%20IC-CPP-2023-050/1.1%20Anexos/39.2._informe_jbq_(1).pdf

Tasić, S., & Janjić, A. (2022). PSEUDOMONAS FLUORESCENS IN SHEEP MILK GREEK YOGHURT FROM VLASINA-A BIOCHEMICAL CHARACTERIZATION. In KNOWLEDGE-International Journal (Vol. 54, Issue 3).

Teillant, A., Gandra, S., Barter, D., Morgan, D. J., & Laxminarayan, R. (2015). Potential burden of antibiotic resistance on surgery and cancer chemotherapy antibiotic prophylaxis in the USA: A literature review and modelling study. The Lancet Infectious Diseases, 15(12), Article 12. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00270-4

Tenea, G. N., Reyes, P., Molina, D., & Ortega, C. (2023). Pathogenic Microorganisms Linked to Fresh Fruits and Juices Purchased at Low-Cost Markets in Ecuador, Potential Carriers of Antibiotic Resistance. Antibiotics, 12(2), 236. https://doi.org/10.3390/antibiotics12020236

Terán, W., Felipe, A., Segura, A., Rojas, A., Ramos, J. L., & Gallegos, M. T. (2003). Antibiotic-dependent induction of Pseudomonas putida DOT-T1E TtgABC efflux pump is mediated by the drug binding repressor TtgR. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 47(10), 3067–3072. https://doi.org/10.1128/AAC.47.10.3067-3072.2003

Thanner, S., Drissner, D., & Walsh, F. (2016). Antimicrobial Resistance in Agriculture. mBio, 7(2), Article 2. https://doi.org/10.1128/mbio.02227-15

The UniProt Consortium (2024). UniProt: the Universal Protein Knowledgebase in 2025, Nucleic Acids Research, Volume 53, Issue D1, 6 January 2025, Pages D609–D617, https://doi.org/10.1093/nar/gkae1010

Tohya, M., Teramoto, K., Watanabe, S., Hishinuma, T., Shimojima, M., Ogawa, M., Tada, T., Tabe, Y., & Kirikae, T. (2022). Whole-Genome Sequencing-Based Re-Identification of Pseudomonas putida / fluorescens Clinical Isolates Identified by Biochemical Bacterial Identification Systems . Microbiology Spectrum, 10(2). https://doi.org/10.1128/spectrum.02491-21

Toleman, M. A., & Walsh, T. R. (2011). Combinatorial events of insertion sequences and ICE in Gram-negative bacteria. FEMS Microbiology Reviews, 35(5), 912-935. https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00294.x

Torres, I., & López-Cevallos, D. F. (2018). Institutional challenges to achieving health equity in Ecuador. The Lancet Global Health, 6(8), e832-e833. https://doi.org/10.1016/S2214-109X(18)30245-6

Tubón, J., Barragán-Fonseca, G., Lalaleo, L., & Calero-Cáceres, W. (2022). Data on antibiograms and resistance genes of Enterobacterales isolated from ready-to-eat street food of Ambato, Ecuador. F1000Research, 11, 669. https://doi.org/10.12688/f1000research.117116.1

Unemo, M., & Shafer, W. M. (2014). Antimicrobial resistance in Neisseria gonorrhoeae in the 21st century: Past, evolution, and future. Clinical Microbiology Reviews, 27(3), Article 3. https://doi.org/10.1128/CMR.00010-14

Vandecraen, J., Chandler, M., Aertsen, A., & Van Houdt, R. (2017). The impact of insertion sequences on bacterial genome plasticity and adaptability. Critical

Reviews in Microbiology, 43(6), 709-730. https://doi.org/10.1080/1040841X.2017.1303661

Verraes, C., Van Boxstael, S., Van Meervenne, E., Van Coillie, E., Butaye, P., Catry, B., De Schaetzen, M.-A., Van Huffel, X., Imberechts, H., Dierick, K., Daube, G., Saegerman, C., De Block, J., Dewulf, J., & Herman, L. (2013). Antimicrobial Resistance in the Food Chain: A Review. International Journal of Environmental Research and Public Health, 10(7), Article 7. https://doi.org/10.3390/ijerph10072643

Vila, J., & Marco, F. (2010). Lectura interpretada del antibiograma de bacilos Gram negativos no fermentadores. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 28(10), 726-736. https://doi.org/10.1016/j.eimc.2010.05.001

von Wintersdorff, C. J. H., Penders, J., van Niekerk, J. M., Mills, N. D., Majumder, S., van Alphen, L. B., Savelkoul, P. H. M., & Wolffs, P. F. G. (2016). Dissemination of Antimicrobial Resistance in Microbial Ecosystems through Horizontal Gene Transfer. Frontiers in Microbiology, 7. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00173

Wales, A. D., & Davies, R. H. (2015). Co-Selection of Resistance to Antibiotics, Biocides and Heavy Metals, and Its Relevance to Foodborne Pathogens. Antibiotics, 4(4), 567-604. https://doi.org/10.3390/antibiotics4040567

Wang, R., van Dorp, L., Shaw, L. P., Bradley, P., Wang, Q., Wang, X., Jin, L., Zhang, Q., Liu, Y., Rieux, A., Dorai-Schneiders, T., Weinert, L. A., Iqbal, Z., Didelot, X., Wang, H., & Balloux, F. (2018). The global distribution and spread of the mobilized colistin resistance gene mcr-1. Nature Communications, 9(1), Article 1. https://doi.org/10.1038/s41467-018-03205-z

Willmann, M., Vehreschild, M. J. G. T., Biehl, L. M., Vogel, W., Dörfel, D., Hamprecht, A., Seifert, H., Autenrieth, I. B., & Peter, S. (2019). Distinct impact of antibiotics

on the gut microbiome and resistome: A longitudinal multicenter cohort study. BMC Biology, 17(1), 76. https://doi.org/10.1186/s12915-019-0692-y

Woodford, N., & Ellington, M. J. (2007). The emergence of antibiotic resistance by mutation. Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 13(1), Article 1. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01492.x

Yamasaki, S., Zwama, M., Yoneda, T., Hayashi-Nishino, M., & Nishino, K. (2023). Drug resistance and physiological roles of RND multidrug efflux pumps in Salmonella enterica, Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa. In Microbiology (United Kingdom) (Vol. 169, Issue 6). Microbiology Society. https://doi.org/10.1099/mic.0.001322

Yang, Y., Li, X., Sun, L., Wang, X.-K., Zhang, Y.-W., Pang, J., Li, G.-Q., Hu, X.-X., Nie, T.-Y., Yang, X.-Y., Liu, J.-H., Brandis, G., You, X.-F., & Li, C.-R. (2025). High level non-carbapenemase carbapenem resistance by overlaying mutations of mexR, oprD, and ftsI in Pseudomonas aeruginosa. Microbiology Spectrum, 13(1), e0139824. https://doi.org/10.1128/spectrum.01398-24

Zack, K. M., Sorenson, T., & Joshi, S. G. (2024). Types and Mechanisms of Efflux Pump Systems and the Potential of Efflux Pump Inhibitors in the Restoration of Antimicrobial Susceptibility, with a Special Reference to Acinetobacter baumannii. In Pathogens (Vol. 13, Issue 3). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/pathogens13030197

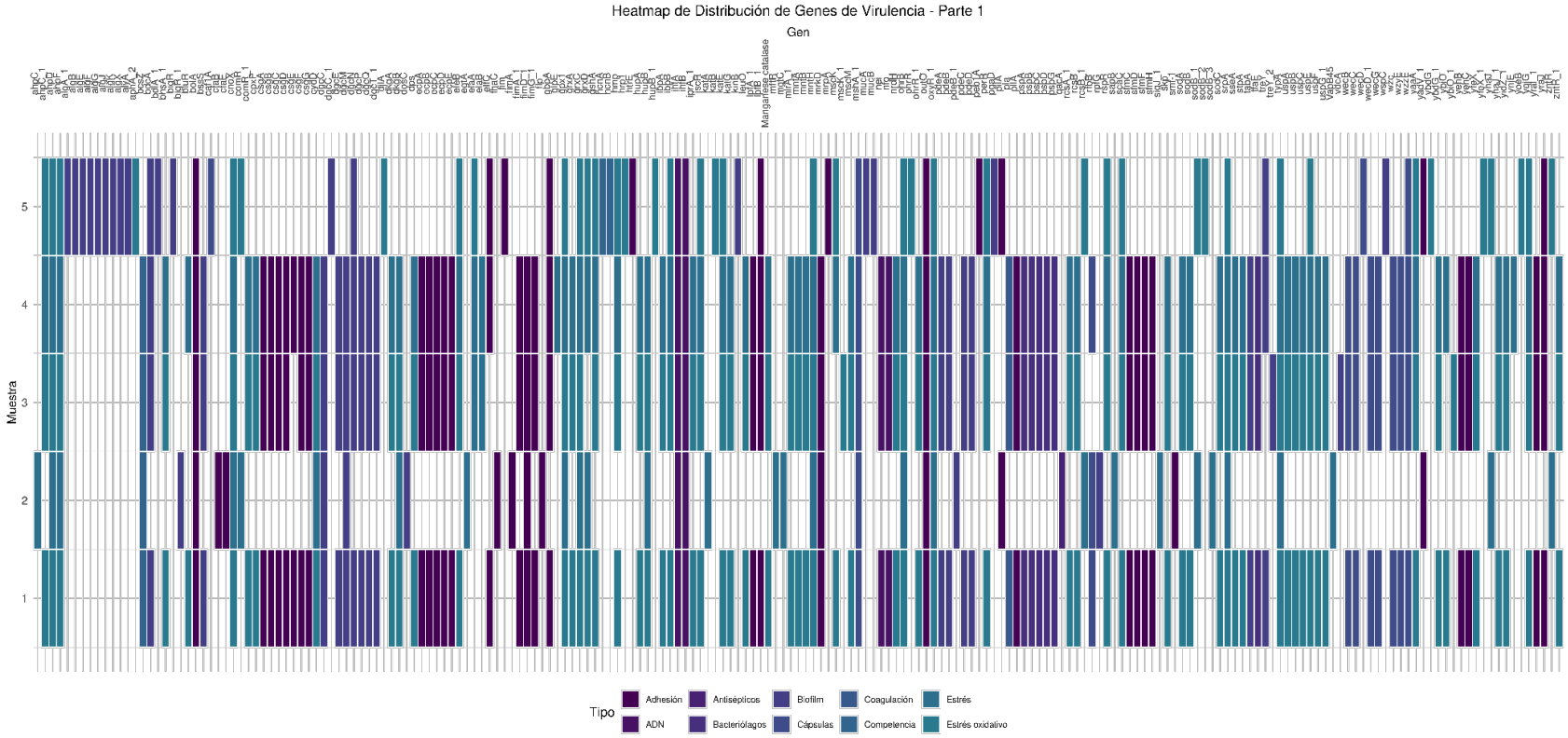
Zankari, E., Hasman, H., Cosentino, S., Vestergaard, M., Rasmussen, S., Lund, O., Aarestrup, F. M., & Larsen, M. V. (2012). Identification of acquired antimicrobial resistance genes. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 67(11), 2640–2644. https://doi.org/10.1093/jac/dks261

Zhang, J., Cui, T., & Li, X. (2018). Screening and identification of an Enterobacter ludwigii strain expressing an active β-xylosidase. Annals of Microbiology, 68(5), 261–271. https://doi.org/10.1007/s13213-018-1334-2

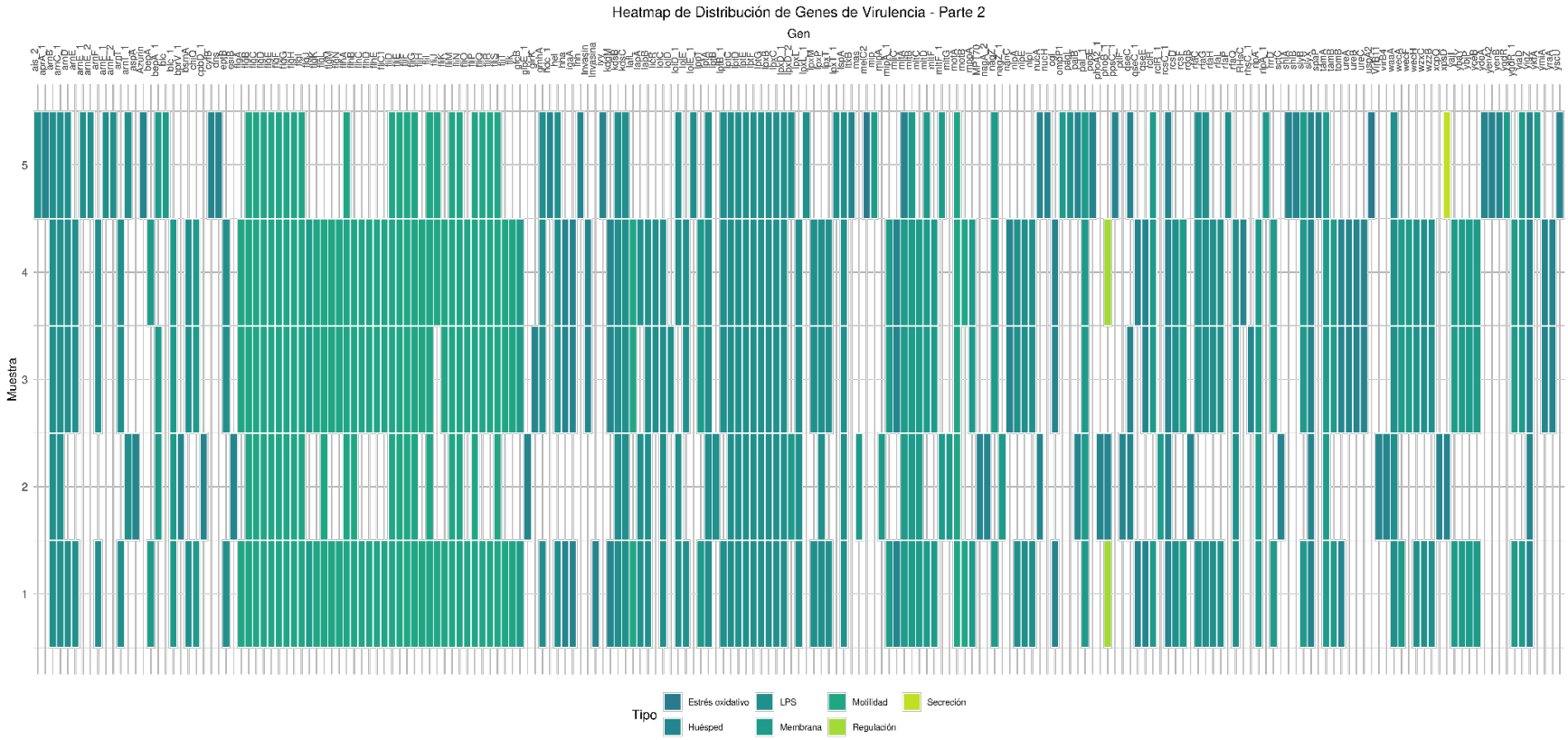
Zurfluh, K., Treier, A., Schmitt, K., & Stephan, R. (2020). Mobile fosfomycin resistance genes in Enterobacteriaceae—An increasing threat. MicrobiologyOpen, 9(12), e1135. https://doi.org/10.1002/mbo3.1135

Zurita, J., Yánez, F., Sevillano, G., Ortega-Paredes, D., & Paz Y Miño, A. (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, 70(3), 203-209. https://doi.org/10.1111/lam.13263

ANEXOS

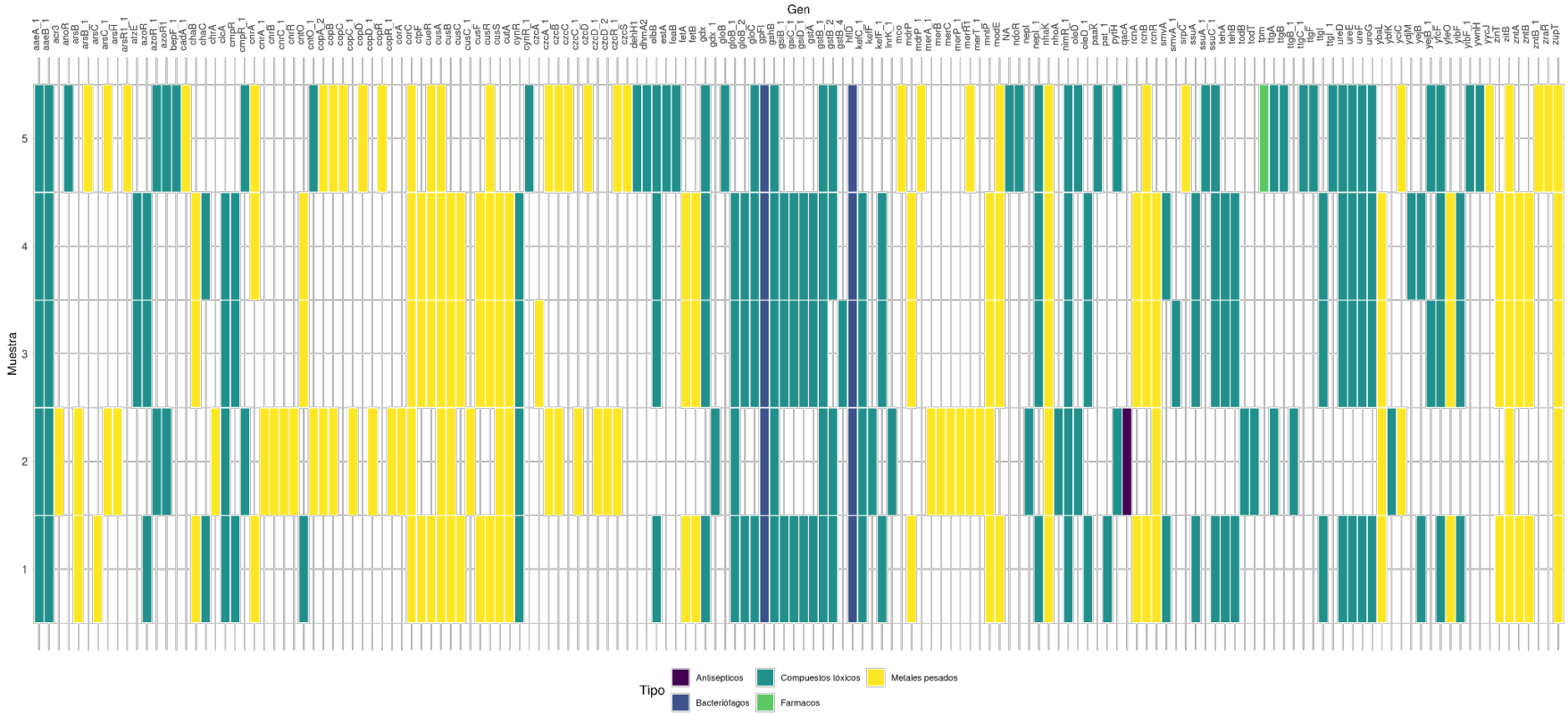


Anexo 1. Genes de virulencia primera parte



Anexo 2. Genes de virulencia segunda parte

Anexo 3. Genes de virulencia tercera parte



Anexo 4. Genes de otros tipos de resistencia