



## **FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

### **Trabajo de fin de Carrera titulado:**

Identificación de genes de resistencia a antimicrobianos en especies bacterianas presentes en cuerpos de agua urbanos y alcantarillado hospitalario del sur del Distrito

Metropolitano de Quito

### **Realizado por:**

Sebastián Alexander Saavedra Velasco

### **Director del proyecto:**

Ing. Alexander Maldonado, MSc.

### **Como requisito para la obtención del título de:**

**INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA**

QUITO, 27 de noviembre del 2025

## **DECLARACIÓN JURAMENTADA**

Yo, **Sebastián Alexander Saavedra Velasco**, ecuatoriano, con Cédula de ciudadanía N° **1718588757**, 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.

-----  
**Sebastián Alexander Saavedra Velasco**  
C.I.: 1718588757

## **DECLARACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS**

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

-----

Ing. Alexander Maldonado MSc

**LOS PROFESORES INFORMANTES:**

DANIEL ALEJANDRO ROMERO ALVAREZ

MANUEL ANDRES HERRERA YELA

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

---

Daniel Alejandro Romero Álvarez PhD.

---

Ing. Manuel Andrés Herrera Yela MSc

Quito, 27 de noviembre 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.

-----  
**Sebastián Alexander Saavedra Velasco**

**C.I.: 1718588757**

## **DEDICATORIA**

A mis padres, por brindarme los recursos y el apoyo que me permitieron llegar hasta aquí. Gracias por su amor incondicional, que me dio la fuerza para seguir adelante en los momentos más difíciles.

A mis hermanos, por ser mi fuente de fortaleza y apoyo constante. Siempre estuvieron allí cuando más los necesitaba, dándome el aliento necesario para continuar.

A mí mismo, por no rendirme y demostrarme que con perseverancia y esfuerzo se pueden alcanzar todas las metas.

## AGRADECIMIENTOS

Quiero comenzar agradeciendo a la universidad por darme la oportunidad de continuar mi formación académica y permitirme llegar hasta aquí, sin este espacio y los recursos brindados, no habría sido posible culminar esta etapa de mi vida.

A mi familia, por ser mi principal fuente de apoyo y fortaleza que siempre estuvieron a mi lado en los momentos de alegría y en los momentos de dificultad, gracias por brindarme todo lo que necesitaba para seguir adelante, por su paciencia, amor incondicional y por ser la base sobre la que me apoyé cuando sentía que me quedaba estancado y que su confianza en mí me dio la fuerza para continuar y sin ellos este logro no habría sido posible.

A mis amigos Mateo Herrera, Isabel Morales y Daniela Tapia quienes además de ser mi apoyo emocional, me brindaron su confianza, incluso cuando las inseguridades me hacían dudar de mis capacidades, gracias por estar allí, por escucharme y por darme los ánimos que necesitaba para seguir adelante.

A mi profesor tutor MSc. Alexander Maldonado, por su dedicación, por estar siempre dispuesto a orientarme y por guiarme a lo largo de este proceso de investigación.

Finalmente, a los profesores Dr. MSc. Jaime Acosta, MSc. Dámaris Intriago y MSc. Andrés Herrera, por compartir su conocimiento y por su generosidad al brindarme su tiempo, quienes con su asesoría, me permitieron tomar las decisiones correctas en momentos clave de la investigación.

Este trabajo de tesis fue realizado bajo el Programa de Investigación:

**SALUD GLOBAL**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

Y con el financiamiento de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad

Internacional SEK

Artículo de tesis

# Identificación de genes de resistencia a antimicrobianos en cuerpos de agua urbanos y alcantarillado hospitalario del sur del Distrito Metropolitano de Quito

Sebastián Saavedra<sup>1</sup>, Alexander Maldonado<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Carrera de Biotecnología. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Internacional SEK - UISEK; [sebastian.saavedra@uisek.edu.ec](mailto:sebastian.saavedra@uisek.edu.ec)

<sup>2</sup> Biomedicina Experimental y Aplicada. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Internacional SEK - UISEK; [ruben.maldonado@uisek.edu.ec](mailto:ruben.maldonado@uisek.edu.ec)

<sup>3</sup> Grupo de Investigación de Enfermedades Emergentes y Desatendidas, Eco-epidemiología y Biodiversidad, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Internacional SEK; [manuel.herrera@uisek.edu.ec](mailto:manuel.herrera@uisek.edu.ec).

\* **Autor de Correspondencia:** [ruben.maldonado@uisek.edu.ec](mailto:ruben.maldonado@uisek.edu.ec);

**Resumen:** La resistencia a los antimicrobianos (RAM) es una amenaza prioritaria para la salud global y aún existe poca evidencia sobre su presencia en ambientes acuáticos urbanos en el sur del Distrito Metropolitano de Quito. En este estudio se recolectaron muestras de la laguna del Parque de las Cuadras y del alcantarillado del Hospital Padre Carollo, observando crecimiento bacteriano reducido en la laguna en contraste con concentraciones elevadas en el hospital. A partir de este último entorno se obtuvieron los aislamientos de mayor interés, que correspondieron a *Proteus mirabilis* y *Stenotrophomonas maltophilia*, caracterizados mediante microbiología clásica, pruebas fenotípicas y secuenciación genómica completa. El análisis reveló genes de resistencia a  $\beta$ -lactámicos, aminoglucósidos, quinolonas y polimixinas, además de bombas de eflujo (MacABCsm, EmrABE, Smra), integrones de clase 1, transposones Tn3 y operones vinculados a resistencia a colistina (arnBCADTEF, phoP).

**Palabras clave:** Resistencia a los antimicrobianos (RAM), Alcantarillado hospitalario, *Proteus mirabilis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, Genes de resistencia, Elementos genéticos móviles.

**Abstract:** Antimicrobial resistance (AMR) is a priority threat to global health, and there is still little evidence of its presence in urban aquatic environments in the southern part of the Metropolitan District of Quito. In this study, samples were collected from the Parque de las Cuadras lagoon and the Padre Carollo Hospital sewer system, observing reduced bacterial growth in the lagoon in contrast to elevated concentrations at the hospital. From the latter environment, the most interesting isolates were obtained: *Proteus mirabilis* and *Stenotrophomonas maltophilia*, characterized using classical microbiology, phenotypic testing, and whole genome sequencing. The analysis revealed genes for resistance to  $\beta$ -lactams, aminoglycosides, quinolones and polymyxins, as well as efflux pumps (MacABCsm, EmrABE, Smra), class 1 integrons, Tn3 transposons and operons linked to colistin resistance (arnBCADTEF, phoP).

**Keywords:** Antimicrobial resistance (AMR), Hospital sewage, *Proteus mirabilis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, Resistance genes, Mobile genetic elements.

## 1. Introducción

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) es una de las mayores amenazas para la salud pública del siglo XXI, definida por la capacidad de los microorganismos para sobrevivir a tratamientos previamente eficaces, comprometiendo el manejo de infecciones comunes (Marston et al., 2016). Aunque se trata de un fenómeno natural en la evolución microbiana, esta se ha intensificado por el uso indiscriminado de antibióticos en medicina humana, veterinaria y en prácticas agrícolas generando presión selectiva sobre poblaciones microbianas. En 2019, la RAM fue responsable de alrededor de 1,27 millones de muertes directas y estuvo vinculada a casi 5 millones más; se estima que esta cifra podría ascender a 10 millones anuales para 2050 si no se implementan medidas urgentes (Naghavi et al., 2024; Tang et al., 2023). Más allá del impacto sanitario, las consecuencias económicas son significativas, con una proyección de pérdidas globales de hasta 100 billones de dólares por reducción de productividad (Amann et al., 2019).

El principal factor genético detrás de la RAM son los genes de resistencia a antimicrobianos (ARGs), segmentos de ADN que otorgan una ventaja selectiva a las bacterias al permitir su supervivencia frente a fármacos, mediante mecanismos moleculares como bombas de eflujo, alteración de sitios diana (ej. PBPs en  $\beta$ -lactámicos), inactivación enzimática de los compuestos antimicrobianos y reducción de la permeabilidad de membrana (Han et al., 2022; Halawa et al., 2024). La presencia de estos genes se facilita por elementos genéticos móviles como plásmidos, transposones e integrones, que contribuyen su diseminación horizontal entre especies bacterianas. A esto se suma la presión selectiva por el uso constante de antibióticos y genes intrínsecos que otorgan resistencia natural amplificando el riesgo de diseminación de la resistencia a nivel ambiental, clínico y agrícola (Michaelis & Grohmann, 2023; Irfan et al., 2022).

Las bacterias Gram negativas representan un grupo prioritario en esta problemática debido a su alta capacidad de adaptación y resistencia clínica, como ocurre en *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* que están asociadas con infecciones nosocomiales graves y muestran resistencia múltiple, frecuentemente mediada por integrones y plásmidos conjugativos que transportan genes como blaCTX-M, blaSHV, blaNDM o blaVIM (Fernández-Cuenca et al., 2020; Zhang et al., 2020).

Una de las rutas más preocupantes de diseminación de estas bacterias y determinantes genéticos ocurre a través de la convergencia de aguas residuales hospitalarias en ecosistemas urbanos, como ríos y lagunas, que actúan como un entorno propicio para la selección y diseminación de estas cepas resistentes (Rodríguez & Jiménez-Quiceno, 2023; Manaia et al., 2018).

Para comprender este proceso han evolucionado técnicas como la metagenómica y la secuenciación de aislados bacterianos, que permiten detectar ARGs incluso en bacterias no cultivables, sin necesidad de métodos tradicionales como cultivos selectivos o PCR que aumenta su eficacia implementado herramientas bioinformáticas como FastQC, Prokka y ResFinder proporcionando datos precisos sobre diversidad genética, mecanismos de resistencia y posibles vectores móviles (Hendriksen et al., 2019; Van Goethem et al., 2018).

Una vez dicho esto, es importante mencionar que investigaciones locales en Ecuador, han identificado la presencia de bacterias resistentes a antimicrobianos en cuerpos de agua cercanos a zonas urbanas e industriales, reflejando un problema de contaminación ambiental y riesgo sanitario (Ortega-Paredes et al., 2022). Este fenómeno no es únicamente en Ecuador ya que estudios en otras ciudades latinoamericanas han reportado hallazgos similares. Por ejemplo, en el estudio de Posada-Perlaza et al. (2019), realizado en el río Bogotá, Colombia se detectaron genes de resistencia clínicamente relevantes como *sul1* y AAC(6')-Ib con capacidad de transferencia horizontal, especialmente en zonas contaminadas por descargas hospitalarias y urbanas. También en el estudio de Domínguez et al. (2021), que analiza investigaciones en 23 países latinoamericanos, se ha reportado la presencia de bacterias multirresistentes y genes de resistencia como *blaTEM*, *sul1*, *int11* y *qnr* en cuerpos de agua con contacto y actividades humanas, particularmente en aguas residuales, fuente de riego y entornos urbanos, destacando países como Brasil, México, Colombia y Cuba.

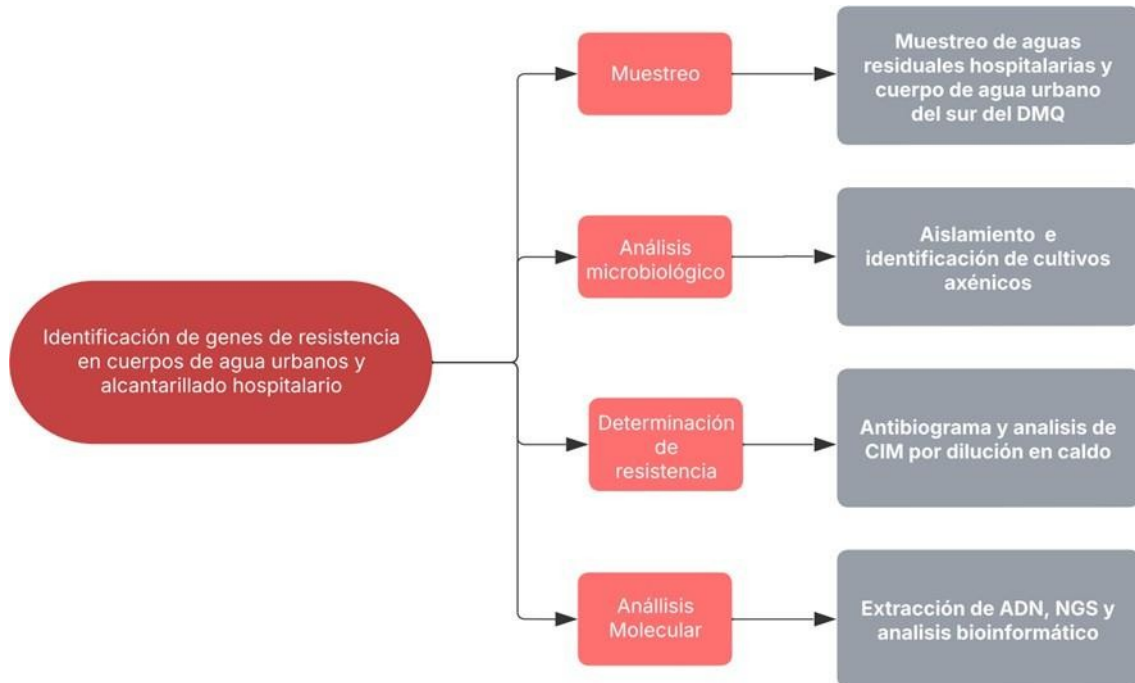
No obstante, los estudios sobre resistencia antimicrobiana (RAM) en Ecuador son limitados con poco enfoque en áreas rurales, especialmente en sectores densamente poblados del sur de Quito. Este trabajo explora la relación entre infraestructura hospitalaria y espacios urbanos de alto tránsito, como el Hospital Padre Carollo y el Parque de las Cuadras. Este hospital, al atender a pacientes inmunocomprometidos, emplea antibióticos de forma intensiva al igual que otros hospitales ecuatorianos. Por ejemplo, en la unidad de cuidados intensivos del Hospital SOLCA de Guayaquil, el 81% de pacientes hospitalizados recibió al menos un antibiótico como betalactámicos y carbapenémicos, generando una presión selectiva que favorece el desarrollo de resistencia bacteriana (Bowen et al., 2019). También, el Hospital Padre Carollo presenta limitaciones operativas en su gestión de residuos, ya que según su protocolo institucional, los fluidos corporales son eliminados mediante lavachatas o sistemas de drenajes utilizando únicamente agua o cloro implementado, sin mostrar un sistema especializado de tratamiento in situ o Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) (Fundación Tierra Nueva, 2023). Por otro lado, la laguna del Parque de las Cuadras se ubica en las inmediaciones del hospital y funciona como espacio recreativo y área de interacción frecuente con la fauna urbana. Si bien el reporte institucional, como lo menciona Quitoinforma (2024), en noviembre del 2024 fue sometida a una limpieza y eliminación de impurezas, no ha presentado evidencia microbiológica sobre la calidad del agua tras esta intervención, lo que incrementa el riesgo de exposición de la comunidad a fuentes de contaminación como aguas residuales y desechos sólidos, afectando tanto a los visitantes como al ecosistema.

Por lo tanto, el objetivo del presente estudio es identificar y caracterizar genes de resistencia a antimicrobianos (ARGs) en bacterias Gram negativas, con énfasis en aquellos vinculados a mecanismos de resistencia extendida, elementos genéticos móviles y factores de virulencia, mediante el análisis de bacterias cultivables aisladas de la laguna del Parque de Las Cuadras y del sistema de alcantarillado del Hospital Padre Carollo, en el sur del Distrito Metropolitano de Quito mediante un enfoque combinado de microbiología clásica para el aislamiento y secuenciación completa del genoma (WGS), junto con herramientas bioinformáticas orientadas a la anotación y categorización funcional.

## 2. Materiales and Métodos

### Diseño del Estudio:

Se llevó a cabo un estudio exploratorio y descriptivo con enfoque microbiológico y bioinformático para identificar genes de resistencia a antimicrobianos (ARGs) en muestras de agua recolectadas en la laguna del Parque Las Cuadras y en el sistema de alcantarillado hospitalario del sur del Distrito Metropolitano de Quito (DMQ). El muestreo fue puntual y por conveniencia, realizado en una única toma de muestra sin aleatorización, en puntos definidos por accesibilidad operativa. Por lo que el estudio se dividió en cuatro fases principales: (1) muestreo, (2) análisis microbiológico, (3) determinación de resistencia, y (4) extracción de ADN, secuenciación y análisis bioinformático, tal y como se observa en la **Figura 1**.



**Figura 1:** Metodología para identificación de genes de resistencia en aguas residuales hospitalarias y cuerpo de agua urbano del sur del DMQ.

### Toma de Muestra:

Se seleccionaron cinco puntos de muestreo por conveniencia en el sur del Distrito Metropolitano de Quito (DMQ), distribuidos entre la laguna del Parque Las Cuadras y el sistema de alcantarillado del Hospital Padre Carollo. En la laguna, se identificaron tres puntos estratégicos (P1, P2 y P3), ubicados en zonas con alta probabilidad de interacción humana, como orillas accesibles, zonas de estancia prolongadas y sectores próximos a posibles fuentes de contaminación. Esta selección se presenta por recomendaciones metodológicas y criterios para vigilancia ambiental, en concordancia con las directrices más recientes de la Organización Mundial de la Salud, que recomiendan priorizar sitios de muestreo representativos del uso recreativo del cuerpo de agua. (Liguori et al., 2022; OMS, 2021). Las muestras recolectadas en estos puntos fueron rotuladas bajo el esquema **PLC-SQ-P1-SS/2025-03-11**, **PLC-SQ-P2-SS/2025-03-11** y **PLC-SQ-P3-SS/2025-03-11**, donde **PLC** hace referencia a la laguna del Parque Las Cuadras, **SQ** hace referencia al sur de Quito, **SS** corresponde a las iniciales del investigador, y la selección de la fecha correspondió a la disponibilidad operativa del equipo de muestreo. Por otro lado, en el Hospital Padre Carollo se tomaron muestras de dos alcantarillas internas (P4 y P5) ubicadas dentro del área hospitalaria, seleccionadas por ser los únicos puntos accesibles con presencia de agua y cercanía a zonas de tránsito frecuente y áreas operativas, lo que podría no reflejar completamente la carga de ARGs del efluente hospitalario total. Estas muestras se etiquetaron como **H-SQ-P4-SS/2025-03-11** y **H-SQ-P5-SS/2025-03-11**, donde **H** representa el entorno hospitalario, y manteniendo el mismo sistema de codificación utilizado para las demás muestras. Los datos recolectados se presentan en la **Tabla 1**.

En cada punto se recolectó una muestra de 120 ml utilizando frascos estériles que contenían un medio de transporte a base de agua peptonada, el cual sirve para mantener la viabilidad de bacterias en muestras ambientales, también se añadió tiosulfato de sodio al 3 % para neutralizar posibles residuos de cloro que pudieran interferir con los resultados (State Water Resources Control Board, 2017; Neal et al., 2023). La recolección se llevó a cabo empleando equipo de protección personal (EPP) en condiciones asépticas, y cada frasco fue manipulado por separado conforme a protocolos estandarizados para el muestreo de aguas superficiales y residuales, en línea con lo propuesto por Liguori et al. (2022). Los puntos de geográficos y de muestreo se describen en la **Figura 2a y 2b**.

Las muestras fueron transportadas en condiciones de refrigeración a 4 °C hasta el laboratorio, donde fueron procesadas mediante diluciones seriadas para el recuento de UFC y asilamiento bacteriano bajo condiciones asépticas en una cabina de flujo laminar y, con ello, garantizar la confiabilidad del estudio.

**Tabla 1.** Registro de muestras recolectadas por punto de muestreo. Las coordenadas están expresadas en grados decimales (latitud, longitud) bajo el sistema de referencia geodésico WGS 84.

<b>Punto</b>	<b>Localidad</b>	<b>Tipo de ambiente</b>	<b>Fecha</b>	<b>Hora (am)</b>	<b>Latitud (°)</b>	<b>Longitud (°)</b>	<b>Volumen (mL)</b>	<b>Observaciones</b>
PLC P1	Parque de las Cuadras – Laguna	Agua superficial recreativa	2025-03-11	10:30	-0.286012	-78.54903	120	Bancos y basureros próximos a ribera
PLC P2	Parque de las Cuadras – Laguna	Agua superficial recreativa	2025-03-11	10:35	-0.285857	-78.54891	120	Bancos y basureros próximos a ribera
PLC P3	Parque de la Cuadras – Laguna	Agua superficial recreativa	2025-03-11	10:40	-0.286183	-78.54916	120	Presencia de aves y alimentación humana
H P4	Hospital Padre Carollo	Afluente hospitalario	2025-03-11	11:00	-0.286346	-78.55036	120	Alcantarillado con influencia hospitalaria
H P5	Hospital Padre Carollo	Afluente hospitalario	2025-03-11	11:05	-0.286684	-78.55410	120	Alcantarillado con influencia hospitalaria



#### *Aislamiento bacteriano e identificación fenotípica:*

A partir de cada muestra, se realizaron dos procedimientos paralelos. Por un lado, se llevaron a cabo diluciones seriadas entre  $10^{-1}$  a  $10^{-5}$ , las cuales se sembraron por duplicado en medios MacConkey para el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC), seleccionando únicamente las placas con recuentos entre 20 y 200 UFC, rango validado para cuantificación microbiana según volumen inoculado y factor de dilución aplicado (SAG, 2025). Por otro lado, el aislamiento de bacterias resistentes a antimicrobianos se realizó empleando agar sangre al 5 % suplementado con colistina (16  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), que permitió recuperar bacterias Gram negativas con resistencia intrínseca o adquirida a polimixinas (Thiry et al., 2019), agar EMB enriquecido con meropenem (16  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), utilizado para favorecer el crecimiento de cepas resistentes a carbapenémicos (Lopez et al., 2020), y agar MacConkey suplementado con cefepime (64  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), orientado al aislamiento de enterobacterias con fenotipos resistentes a cefalosporinas de cuarta generación (Taddeucci-Rocha et al., 2025; Carey et al., 2022). A partir de las colonias seleccionadas, se obtuvieron cultivos puros y se realizó caracterización fenotípica, por tinción Gram, observación morfológica en medios diferenciales y en la aplicación de pruebas bioquímicas convencionales, se incluyeron; TSI, LIA, citrato, SIM, urea, MRVP y Oxidasa que permitieron orientar la clasificación taxonómica para determinar el género bacteriano (Sociedad Española de Medicina Clínica, 2021). Finalmente, la susceptibilidad antimicrobiana se evaluó en agar Mueller-Hinton, siguiendo los lineamientos establecidos por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-Ed.34 (2024), y seleccionando los antibióticos según el grupo bacteriano identificado; en el caso de *Enterobacterales*, se emplearon, *Ampicilina*, *Cefazolina*, *Cefotaxima*, *Amoxicilina-clavulanato*, *Ampicilina-sulbactam*, *Gentamicina*, *Ciprofloxacino*, *Levofloxacino*, *Trimetoprima-sulfametoxazol*, *Ceftriaxona*, *Meropenem*, mientras que para no *Enterobacterales* se incluyeron *Levofloxacino*, *Ceftazidima*, *Gentamicina*, *Tetraciclina*, *Estreptomycinina*, *Ciprofloxacino*, *Cefepime*, *Meropenem*, evaluando los resultados con base en los puntos de corte establecidos en el manual.

#### *Prueba de susceptibilidad a colistina mediante dilución en caldo (Broth Disk Elution):*

Se realizó la caracterización fenotípica de susceptibilidad a colistina mediante el método Broth Disk Elution, conforme a los lineamientos del CLSI M100-Ed.34 (2024). Esta prueba se aplicó a aislamientos seleccionados por su relevancia clínica. A cada tubo con caldo Mueller-Hinton se le incorporaron discos de colistina (10  $\mu\text{g}$ ) para alcanzar concentraciones finales de 0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (control), 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  y 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectivamente, y la concentración mínima inhibitoria (CMI) se determinó visualmente como la menor concentración en la que el medio permaneció claro, sin turbidez visible, en concordancia con los criterios establecidos por el CLSI.

#### *Extracción y Secuenciación del ADN Genómico:*

La extracción de ADN genómico bacteriano se realizó utilizando el kit GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific). La concentración del ADN se determinó mediante fluorometría (Qubit) (Thermo Fisher Scientific), incluyendo un control negativo, el cual no presentó señal detectable. Posteriormente, la integridad del ADN fue verificada por electroforesis en gel de agarosa al 1 % utilizando un marcador molecular de 1kb (TrackIT™ 1 Kb Plus DNA Ladder, Invitrogen, Thermo Fisher Scientific; cat. 10488085; Waltham, MA, USA).

A partir del material genético se prepararon bibliotecas mediante tagmentación y amplificación por PCR, las cuales fueron secuenciadas en plataforma Illumina MiSeq con lecturas emparejadas de 2x150 pb en BioSequence (Quito, Ecuador).

Las muestras seleccionadas para la secuenciación genómica correspondieron a aislamientos con perfiles de resistencia antimicrobiana relevantes, particularmente frente a colistina, meropenem y cefepime. Se seleccionaron dos aislamientos provenientes de los puntos de alcantarilla 4 y 5 del hospital, priorizando perfiles de resistencia diferenciados. En el caso de las muestras de laguna del Parque de Las Cuadras, no se incluyeron en esta etapa debido a que no presentaron resistencia múltiple.

#### *Análisis Bioinformático*

##### *Evaluación de la calidad y filtrado de secuencia:*

Se evaluó la calidad las secuencias obtenidas utilizando la herramienta **FastQC** v0.12.0, considerando la presencia de adaptadores y distribución de calidad por posición. El filtrado se realizó con Trimmomatic v0.36 a través de Galaxy Australia, eliminando adaptadores y bases de baja calidad, aplicando un umbral promedio mínimo de Q30. Las secuencias fueron generadas mediante tecnología Illumina la cuales se procesaron como lecturas paired-end, mediante el uso de archivos de entrada separados (forward y reverse) (Bolger et al., 2014; Illumina, 2011).

##### *Ensamblaje e identificación genómica:*

El ensamblaje de las lecturas generadas se realizó utilizando la herramienta SPAdes el cual optimiza los parámetros para obtener un ensamblaje de alta calidad. Posteriormente, la calidad del ensamblaje se evaluó con Quast, considerando parámetros como el número total de contigs, cantidad de contigs mayores a 1.000 pb, longitud total del ensamblaje, longitud del contig más largo, N50, N90, L50, L90 y porcentaje de contenido GC (Dickey et al., 2024).

Adicionalmente la identificación de los aislamientos fue comparada mediante BLAST frente a la base de datos de NCBI, seleccionando como criterio de aceptación valores de identidad superiores al 98% y cobertura mayor del 98% (Escapa et al., 2018). También la confirmación de la especie se realizó mediante la identidad promedio de nucleótidos utilizando FastANI, considerando un umbral de del 95% para la asignación de la especie (Jain et al., 2018). Finalmente, se realizó un análisis de tipado multilocus (MLST) utilizando el archivo de contigs generado por SPAdes para identificar variaciones clonales o de linaje mediante esquemas específicos según la especie y alelos de referencia (de Sales et al., 2020).

*Identificación de Genes de Resistencia a Antibióticos (ARGs) mediante ABRicate:*

Para la identificación de genes de resistencia, plásmidos y factores de virulencia, se utilizó la herramienta ABRicate, ejecutando análisis separados con las bases de datos ResFinder, PlasmidFinder y VFDB. Para garantizar la confiabilidad de los resultados, se estableció un umbral de 80% de ADN tanto en identidad como en cobertura de secuencia lo que permite identificar genes completos o casi completos, descartando aquellos con similitudes parciales que podrían generar resultados ambiguos. (Bortolaia et al., 2020; Bharat et al., 2022; Safar et al., 2023). No se aplicó un filtrado específico para excluir genes intrínsecos, ya que estos fueron considerados en el análisis según su detección tanto en ABRicate como en *Prokka*.

*Anotación funcional de genes mediante Prokka:*

La anotación de genes se realizó utilizando *Prokka*, una herramienta que permite predecir y asignar funciones a todos los elementos genéticos presentes en el ensamblaje de *novo*. A diferencia de las búsquedas específicas realizadas con ABRicate, *Prokka* lleva a cabo una anotación general del genoma ensamblado, lo que permitió identificar genes de relevancia tanto para RAM, elementos móviles y factores de virulencia, ya que esta herramienta integra diversas bases de datos de referencia y algoritmos de predicción, generando archivos en formato estándar (.GFF, .GBK, .TSV) que facilitan el análisis detallado y la interpretación de la información genética de cada aislamiento (Seemann, 2014).

**3. Resultados**

*Recuento bacteriano total:*

En los puntos 1 y 2 de la Laguna Del Parque Las Cuadras no se registró crecimiento bacteriano, ya que las concentraciones observadas en medio MacConkey sin antibióticos fueron inferiores al umbral de cuantificación ( $\geq 20$  UFC/placa). En cambio, en el punto 3 del mismo entorno se observó crecimiento bacteriano dentro del rango contable, aunque con estimaciones bajas que indican una carga microbiológica reducida. Por otro lado, en los puntos 4 y 5, correspondientes al Hospital Padre Carollo se registraron concentraciones bacterianas significativamente mayores. Todas las concentraciones fueron calculadas a partir de placa de dilución  $10^{-3}$  y se resumen en la **Tabla 2** de a continuación

**Tabla 2.** Recuento bacteriano total en duplicado de los puntos de muestreo.

Ubicación	Punto de muestreo	Recuento Duplicado 1 (UFC/ml)	Recuento Duplicado 2 (UFC/ml)
Laguna del Parque de las Cuadras	PLC P1	<20	<20
	PLC P2	<20	<20
	PLC P3	$3.7 \times 10^2$	$3.7 \times 10^2$
Hospital padre carollo	H P4	$2.3 \times 10^5$	$2.4 \times 10^5$
	H P5	$2.0 \times 10^5$	$2.0 \times 10^5$

*Selección inicial de colonias resistentes:*

Se obtuvieron siete aislamientos bacterianos a partir de los medios con antibióticos correspondientes a las muestras recolectadas en los puntos 3, 4 y 5. En el punto 3 que corresponde a la laguna del Parque De Las Cuadras se aisló una colonia PLC-P3 (1) en agar sangre suplementado con colistina (16  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). En el punto 4 (alcantarilla 1 Hospital Padre Carollo), se recuperaron cinco aislamientos; H-P4 SQ (2), H-P4 SQ (3), H-P4 SQ (4) tres en sangre más colistina (16  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), y dos H-P4 SQ (5) y P4 SQ (6) que crecieron en EMB con meropenem (16  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), mientras que en el punto 5 (alcantarilla 2 Hospital Padre Carollo), se obtuvo una colonia H-P5 SQ (7) en el medio EMB más meropenem. Los resultados se resumen en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Descripción de colonias resistentes obtenidas en medios selectivos.

Origen	Código	Resistencia	Morfología visual
Laguna del Parque de las Cuadras	PLC-P3 (1)	Colistina	Colonias medianas, lisas, bordes regulares, pigmentación crema
	H-P4 SQ (2)	Colistina	Colonias pequeñas, secas, bordes enteros, pigmentación blanco-mate
Hospital Padre Carollo	H-P4 SQ (3)	Colistina	Colonias grandes, lisas, bordes ondulados, pigmentación crema.
	Alcantarilla 1 H-P4 SQ (4)	Colistina	Colonias medianas, secas, bordes enteros, pigmentación blanco-opaca
	H-P4 SQ (5)	Meropenem	Colonias pequeñas, secas, bordes enteros, pigmentación amarillo-pálido
	H-P4 SQ (6)	Meropenem	Colonias medianas, lisas, bordes enteros, pigmentación blanco-crema.
	Alcantarilla 2 H-P5 SQ (7)	Meropenem	Colonias medianas, lisas, bordes enteros, pigmentación amarillo-pálido.

#### Aislamiento e identificación bacteriana:

En la **Tabla 4** se puede observar los siete aislamientos obtenidos mediante estriado por agotamiento en agar MacConkey, cuatro fueron seleccionados para análisis posteriores: PLC-P3 (1), H-P4 SQ (3), H-P4 SQ (4) y H-P5 SQ (7), ya que estos presentaron morfología definida, tinción Gram sin indicios de contaminación por levaduras o presencia de hongos. El aislamiento PLC-P3 (1) presentó un perfil bioquímico compatible con *Providencia spp*, H-P4 SQ (3) mostró características compatibles con el género *Proteus spp*, mientras que los aislamientos H-P4 SQ (4) y H-P5 SQ (7) se clasificaron como no *Enterobacterales*. De los siete aislamientos recuperados en medios selectivos, cuatro mostraron características morfológicas consistentes con bacterias Gram negativas. Sin embargo, los aislamientos H-P4 SQ (2), H-P4 SQ (5) y H-P4 SQ (6) exhibieron crecimiento mixto, con evidencia de colonias fúngicas, levaduriformes o bacilos Gram positivos, lo que impidió obtener cultivos puros mediante subcultivo en medios no selectivos. Dado que el objetivo del estudio fue caracterizar exclusivamente bacterias Gram negativas multirresistentes, estos aislamientos fueron excluidos del análisis fenotípico y genómico posterior. Ver resultados bioquímicos de cada bacteria en **Anexos**.

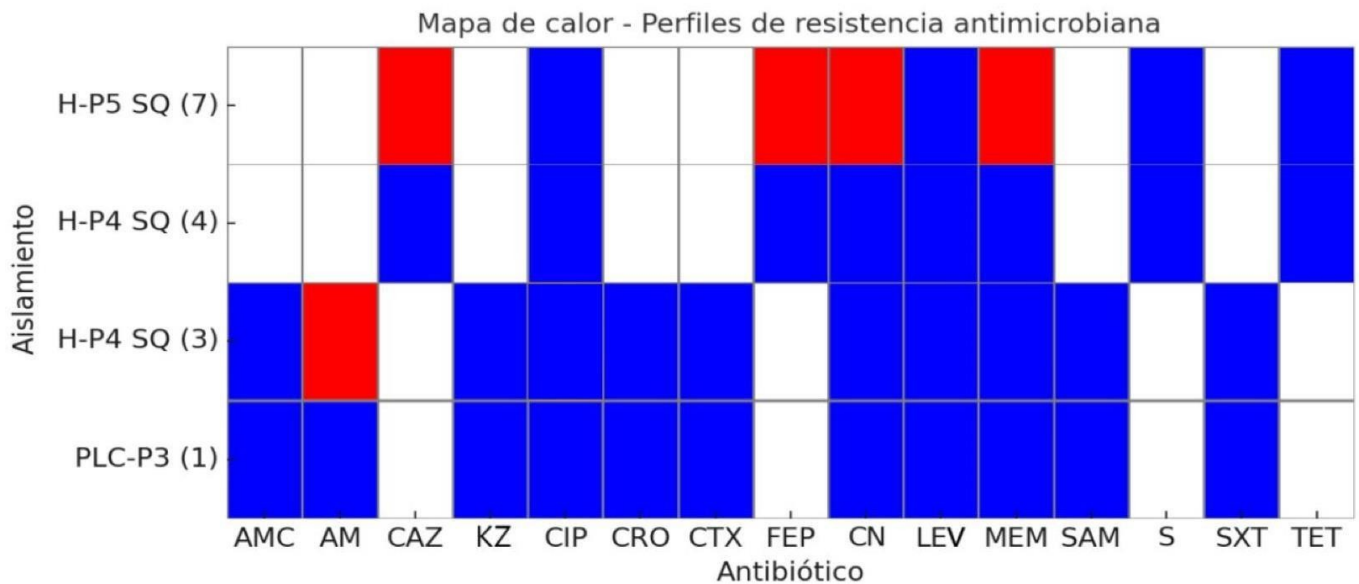
Tabla 4. Identificación bacteriana de aislamientos seleccionados.

Código	Tinción	Criterios de selección	Género bacteriano	Análisis posteriores
PLC-P3 (1)	Bacilos Gram negativos	Sin contaminación	Enterobacterial <i>Providencia spp</i>	SI
H-P4 SQ (2)	Bacilos Gram negativos y positivos	Presencia de hongos y levaduras	No Enterobacterial	NO
H-P4 SQ (3)	Bacilos Gram negativos	Sin contaminación	Enterobacterial: <i>Proteus spp</i>	SI
H-P4 SQ (4)	Bacilos Gram negativos	Sin contaminación	No enterobacterial	SI
H-P4 SQ (5)	Bacilos Gram negativos, presencia de levadura y colonias mixtas	Presencia de levadura y colonias mixtas	No enterobacterial	NO

H-P4 SQ (6)	Bacilos Gram negativos, presencia de hongos	Presencia de hongos	No enterobacterial	<b>NO</b>
H-P5 SQ (7)	Bacilos Gram negativos	Sin contaminación	No enterobacterial	<b>SI</b>

Caracterización de perfiles de resistencia antimicrobiana:

En la **Figura 3** se puede observar los perfiles de resistencia antimicrobiana, el cual evidenció que los aislamientos procesados PLC-P3 (1), H-P4 SQ (3), H-P4 SQ (4) y H-P5 SQ (7) presentaron diferencias notables en los patrones de resistencia en función de su clasificación como *Enterobacteriales* o no *Enterobacteriales*. H-P4 SQ (3) (*Enterobacteriales*) presentó resistencia a AM, mientras que H-P5 SQ (7) (No *Enterobacterial*), mostró resistencia a CAZ, GN, FEP y MEM. Por otro lado los aislamientos H-P4 SQ (4) y PLC-P3 (1) no presentaron resistencia múltiple y fueron sensibles a todos los antibióticos evaluados.



**Figura 3.** Mapa de calor de perfiles de resistencia antimicrobiana. Azul = sensible, rojo = resistente. El aislamiento H-P4 SQ (3) presentó resistencia a AM, mientras que H-P5 SQ (7) mostró resistencia a CAZ, GN, FEP y MEM

Resistencia a colistina mediante elución de discos en caldo (Broth Disk Elution):

Una vez identificados los aislamientos con resistencia múltiple, se evaluó la susceptibilidad frente a colistina mediante el método de elución de discos en caldo. H-P5 SQ (7) presentó turbidez en los tubos 0, 1, 2 µg/mL (CIM ≤ 2 µg/mL), mientras que H-P4 SQ (3) presentó turbidez en todos los tubos 0, 1, 2 y 4 µg/mL (CIM > 4 µg/mL), lo que indica crecimiento incluso en la concentración más alta ensayada. En la **Tabla 5** se puede observar los resultados de ambos aislados.

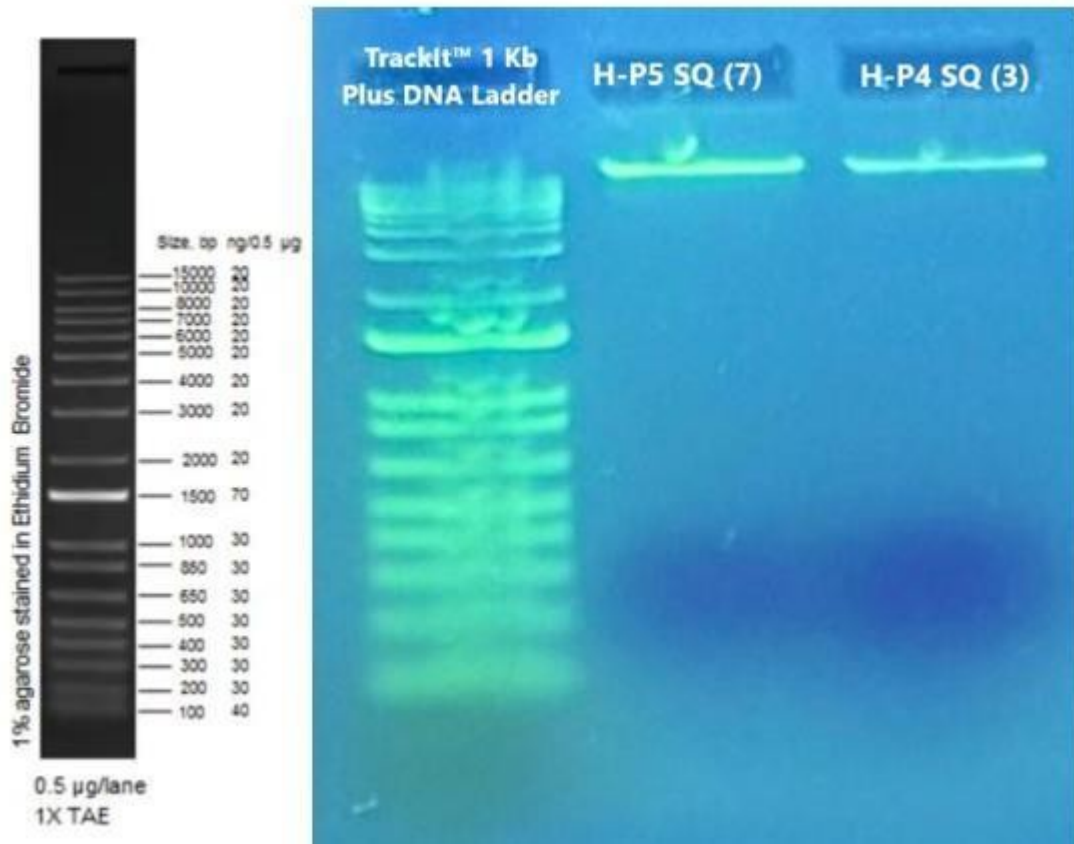
**Tabla 5.** Evaluación de susceptibilidad a colistina mediante Broth Disk Elution.

Código	0 µg/mL	1 µg/mL	2 µg/mL	4 µg/mL	Interpretación
H-P4 SQ (3)	+	+	+	+	Resistente
H-P5 SQ (7)	+	+	+		Intermedio

Resultado molecular:

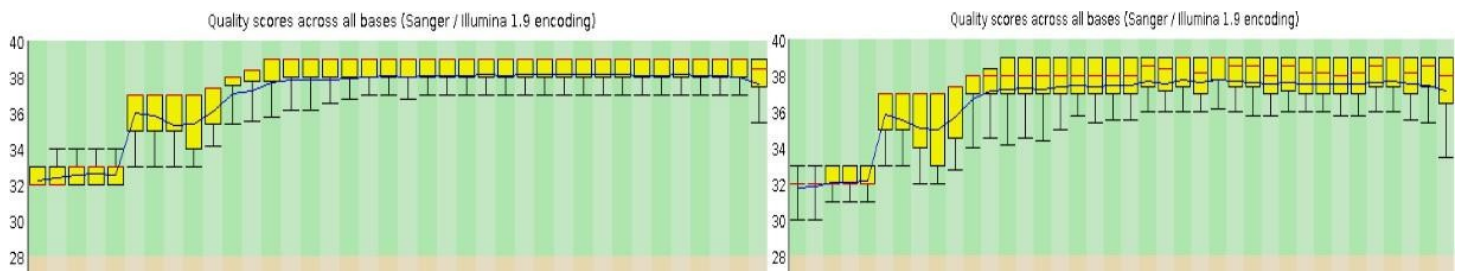
La concentración de ADN genómico para ambos aislados, mediante Qubit 4 fue de 42,8 ng/uL de ADN en H-P4 SQ (3) mientras que para H-P5 SQ (7) se obtuvo 80.2 ng/uL, ambas bacterias estuvieron dentro del rango requerido para la preparación de bibliotecas genómicas según las especificaciones técnicas del proveedor BioSequence (recomendación el valor). Como se observa en la **Figura 4** en el gel de agarosa al 1% las muestras presentan una banda de ADN definida, sin presencia de degradación.

**Figura 4.** Electroforesis en gel de agarosa al 1% del ADN genómico de los aislamientos H-P4 SQ (3) y H-P5 SQ (7).

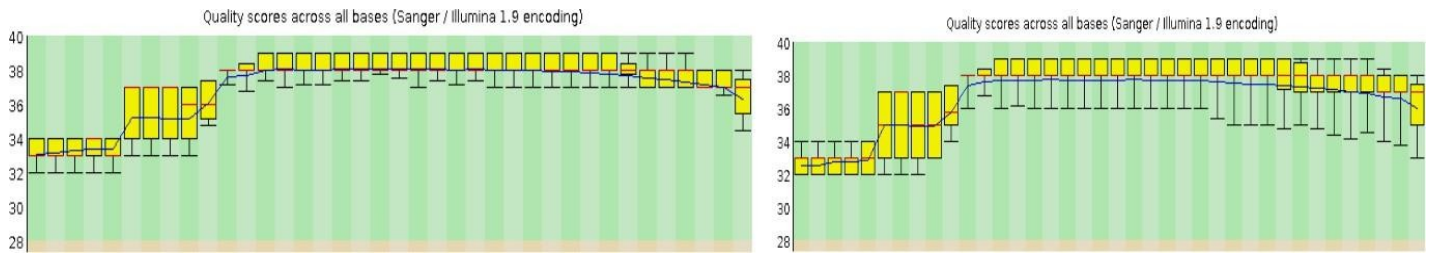


Calidad de lecturas, ensamblaje y caracterización genómica:

En las **Figuras 5 y 6** se pueden observar los reportes de FastQC posteriores al filtrado con Trimmomatic ( $\text{Phred} \geq 30$ ) mostraron que ambas bacterias presentaron valores Phred cercanos a 32–34 en los primeros 10 pb. En H-P4 SQ (3) el valor final en las secuencias R1 y R2 fue de 38 que se presentaron como los valores aproximados respectivamente, mientras que en H-P5 SQ (7) se obtuvieron valores medios de 36 en R1 y R2.



**Figura 5.** Valores de calidad Phred post-trimado de las lecturas Reverse 1 y Reverse 2 del aislamiento H-P4 SQ (3) obtenidas mediante FastQC.



**Figura 6.** Valores de calidad Phred post-trimado de las lecturas Reverse 1 y Reverse 2 del aislamiento H-P5 SQ (7) obtenidas mediante FastQC.

Adicionalmente el ensamblaje de *de novo* con SPAdes presentó un conjunto de datos que fue posteriormente evaluado con Quast. H-P4 SQ (3) presentó 30 contigs con una longitud total de 3,73Mb, un N50 de 239.491pb, y una secuencia máxima de 755.538 pb; además, presentó un L50 de 5, N90 de 83.078 y contenido GC de 38,5%. En contraste, H-P5 SQ (7), se obtuvieron 316 contigs, y un tamaño total de 4,69Mb, con valores de N50 y L50 de 24.713 y 60 respectivamente, una secuencia máxima de 96.605pb, N90 de 8273 y un contenido GC elevado de 66,35%.

En cuanto a la identificación por similitud mediante BLAST, la secuencia de H-P4 SQ (3) presentó una coincidencia del 99,99% de identidad y 100% de cobertura con *Proteus mirabilis* strain XH1568 (CP049941), mientras que H-P5 SQ (7) mostró un 98,89% de identidad y 100% de cobertura con *Stenotrophomonas maltophilia* strain Sm53 (CP040430.1), además la identidad de cada bacteria confirmada por fastANI para ambas bacterias fue de 99,17% y 97,27% respectivamente. El análisis de tipado multilocus (MLST) no arrojó coincidencias con secuencias registradas.

*Genes anotados de Stenotrophomonas maltophilia y Proteus mirabilis:*

Respecto a la anotación de genes de resistencia, la herramienta ABRicate junto con la base de datos ResFinder identificó en *Proteus mirabilis* tres genes de resistencia, *cat\_1*: 98,32% de identidad, 99,85% de cobertura, *tet(J)\_1*: 99,98% de identidad, 100% de cobertura, *qnrD1*: 100% identidad y cobertura. Mientras que en *Stenotrophomonas maltophilia* se anotaron dos genes de resistencia, *aph(3')-IIc\_1*: 98,51% de identidad y 99,14% de cobertura, *BlaL\_1*: 89,31% de identidad y 93,33% de cobertura. Adicionalmente, no se detectaron plásmidos ni factores de virulencia en ambas bacterias, según los análisis con las bases PlasmidFinder y VFDB.

A partir del análisis realizado con Prokka, en *S. maltophilia* se identificaron 68 genes de resistencia a antimicrobianos (RAM) representando aproximadamente el 60 % por genes multirresistencia MDR, seguido por genes asociados a β-lactámicos (16,2 %), macrólidos (11,8 %), polimixinas (4,4 %), otros antibióticos, incluyendo, fenazina, bicyclomicina y fosfomicina (4,4 %), y aminoglucósidos (2,9 %). Por su parte, en *P. mirabilis* se identificaron 46 genes de resistencia, los cuales genes MDR constituyeron el 54,3 %, seguidos por genes β-lactámicos (15,2 %), polimixinas (8,7 %), tetraciclinas (6,5 %), macrólidos (4,3 %) y aminoglucósidos (2,2 %), y otros antibióticos como fosfomicina, bicyclomicina, cloranfenicol y linearmycin (8,7 %) genes que se resumen en la **Figura 7**. A continuación, la **Tabla 6** presenta algunos genes de cada bacteria identificados durante el análisis.

**Tabla 6.** Genes de resistencia identificados en *Proteus mirabilis* y *Stenotrophomonas maltophilia*

Bacteria	Mecanismo	Gen	Resistencia
<i>Proteus mirabilis</i>	Bombas de eflujo	<i>acrA/B/Z –TolC</i>	Multirresistencia (MDR)
		<i>emrA/B/D/E</i>	
		<i>macA/B</i>	
		<i>YbhR, tetA/J</i>	
		<i>mdtA/B/C/H</i>	
		<i>mdlA/B/C</i>	
	Inactivación enzimática	<i>aadK</i>	Aminoglucosidos
		<i>fosA</i>	Fosfomicina
		<i>cat</i>	Cloranfenicol
Modificación de membrana	<i>ArnA/D, emrA</i>	Polimixinas	

	Modificación de diana	<i>mrcA/B, pbpC, ftsl</i>	β-lactámicos
<i>Stenotropho mona maltophilia</i>	Bombas de eflujo	<i>macA/B/C</i>	Multirresistencia (MDR)
		<i>acrA/B/F</i>	
		<i>mexA/B</i>	
		<i>arnBCDATE</i>	
		<i>mdtL</i>	
		<i>mdlA/B/C</i>	
		<i>smrA</i>	
		<i>oqx23</i>	
		<i>ybhF/R/S</i>	
		<i>emrEB</i>	
Inactivación enzimática		<i>fsr</i>	Fosfomicina
		<i>BlaL1, Toho-1,</i>	β-lactámicos
		<i>aac(6)-Iz, neo, eis</i>	Aminoglucósidos
Modificación de diana		<i>PbcE/C, ftsl, ampG, mrcA/B, lpoA</i>	β-lactámicos
		<i>EmrA, eptA, phoP</i>	Polimixinas

**Tabla 7.** Determinantes genéticos y fenotipos de resistencia en *Proteus mirabilis* y *Stenotrophomonas maltophilia*

<b>Bacteria</b>	<b>Antibiótico</b>	<b>Fenotipo</b>	<b>Determinantes en su posible resistencia</b>	<b>Referencias</b>
<i>Proteus mirabilis</i>	Colistina	Resistente	<i>arnA, arnD (arnBCADTEF), EmrA/B</i>	Gogry et al., 2021; Armbruster et al., 2017; Jang, 2023
	Ampicilina	Resistente	<i>AcrAB-TolC</i>	Jang, 2023; Visalli et al., 2003
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Ceftazidima	Resistente	<i>blaL1 (MBL) + Toho-1 (ESBL)</i>	Yang et al., 2014; Sapula et al., 2025; Celenza et al., 2008
	Cefepime	Resistente	<i>blaL1 (MBL) + Toho-1 (ESBL)</i>	Yang et al., 2014; Sapula et al., 2025
	Meropenem	Resistente	<i>blaL1 (MBL)</i>	Yang et al., 2014
	Gentamicina	Resistente	<i>MacAB-TolCsm</i>	Lin et al., 2014
	Colistina	Intermedio	<i>Operón arnBCDE</i>	Zhang et al., 2024; Wang et al., 2012; Tunç et al., 2024

### Distribución de genes RAM por bacteria

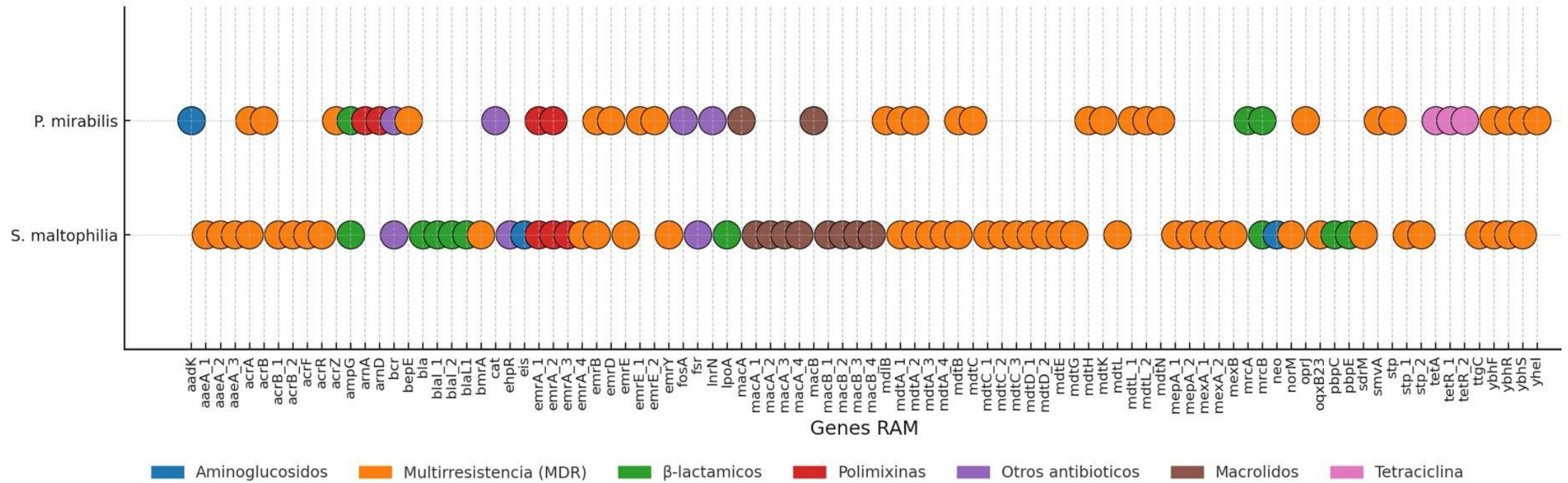
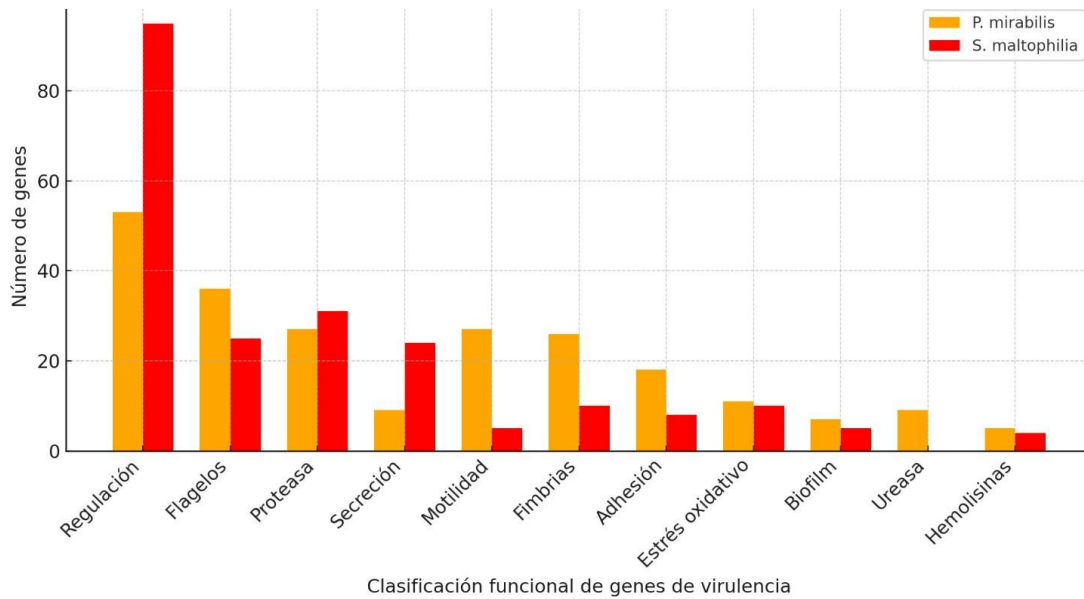


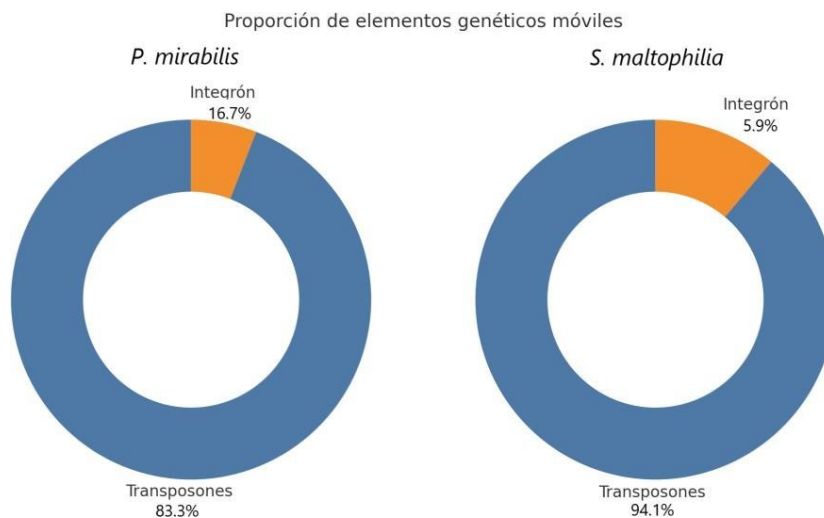
Figura 7. Genes de resistencia antimicrobianos identificados en *P.mirabilis* y *S. maltophilia*, agrupados por clase funcional

Además de los genes de resistencia antimicrobiana, el análisis bioinformático con *Prokka* permitió identificar un número considerable de factores de virulencia en ambos aislados bacterianos. En este estudio se identificaron en promedio 223 genes de virulencia en *Proteus mirabilis* y 216 en *Stenotrophomonas maltophilia*, distribuidos en once categorías funcionales como se observa en la **Figura 8**. *P. mirabilis* presentó un predominio de genes asociados a motilidad (12.1%), adhesión (8.1%) y flagelos (16.1%). Por su parte *S. maltophilia* mostró un patrón diferente, con una proporción de genes de proteasas (14.4 %), respuesta al estrés oxidativo (4.6%), y también genes de secreción (11.1 %). Los genes detallados se pueden observar en **Anexos**.



**Figura 8.** Número de genes de virulencia por categoría funcional en *P. mirabilis* y *S. maltophilia*

Como complemento al análisis de factores de virulencia, se caracterizaron elementos genéticos móviles presentes en ambas cepas. En *P. mirabilis*, se detectaron seis elementos, de los cuales cinco correspondieron a transposones (83,3%) los cuales pertenecen a la familia IS3 (ISSba3), ISKra4 (ISCep1), ISNCY (ISRor2), IS1595 (ISSsu9), Tn3 (tnpR) y uno a un integrón intS, codificante de una integrasa de tipo profágico (16,7%). En *S. maltophilia*, se identificaron 17 elementos, distribuidos en 16 transposones (94,1%) correspondientes a las familias IS3 (ISStma2, ISStma3, ISStma13), IS110 (ISStma6, ISStma7, ISStma8, ISPPu10), IS481 (ISStma3, ISStma12, ISBIm4), IS1595 (ISBsp7), así como genes asociados a transposones Tn10 (tetC), Tn3 (ISMpo10), y un integrón (5.9%) intA, también relacionado con integrasas de profagos.



**Figura 9.** Proporción y clasificación de elementos genéticos móviles en *S. maltophilia* y *P. mirabilis*

#### 4. Discusión

Los resultados de esta investigación muestran que en las bacterias gram-negativas aisladas, se identificaron genes de resistencia antimicrobiana de importancia clínica, incluyendo determinantes asociados a la resistencia  $\beta$ -lactámicos, tetraciclinas, aminoglucósidos, polimixinas, macrólidos y multirresistencia, lo que indica la capacidad de estas bacterias en presentar perfiles de resistencia coinciden con lo señalados por Berendonk et al. (2015), quienes destacan que los ambientes acuáticos funcionan como reservorios o puntos de resistencia. En términos de distribución el alcantarillado del Hospital Padre Carollo presentó las mayores concentraciones bacterianas, con recuentos de hasta  $2,4 \times 10^5$  UFC/mL en el punto H P4 y  $2,0 \times 10^5$  UFC/mL en H P5, que se alinean con lo reportado en otros estudios de la región. En Brasil Vasquez et al. (2025) documentaron concentraciones promedio de bacterias resistentes en aguas cercanas a  $5,7 \log$  UFC/mL, mencionando además que los hospitales son fuentes relevantes de generación de bacterias multirresistentes debido al uso intensivo de antibióticos. De manera similar, en Argentina, Paz et al. (2004) identificaron cargas bacterianas en el Hospital de Clínicas de Buenos Aires, con  $5,4 \times 10^6$  UFC/mL de bacterias mesófilas viables y  $1,2 \times 10^5$  NMP/100 mL de coliformes fecales, lo cual demuestra que los efluentes hospitalarios pueden alcanzar concentraciones elevadas. Por otro lado si bien en el parque de las cuadras se registraron recuentos bacterianos más bajos, con valores inferiores a 20 UFC/mL en los puntos P1 y P2, y en el punto P3 ( $3,7 \times 10^2$  UFC/mL) que si bien representa crecimiento bacteriano, se mantienen dentro rangos bajos. Esto ya se ha observado en otros cuerpos de agua urbanos con fines recreativos; por ejemplo, Moretto et al. (2021) reportaron en Brasil recuentos de coliformes entre 149 y 736 UFC/mL y de *E.coli* entre 4.8 y 406 UFC/mL en lagunas como Cabrito, Tororó y Abaeté, evidenciando que incluso cuerpos de agua urbana pueden albergar bacterias y genes clínicamente relevantes.

También en este trabajo se evidenció crecimiento bacteriano en colistina, que es de relevancia ya que este antibiótico es considerado de última línea frente a infecciones por bacilos gramnegativos multirresistentes. Reportes hospitalarios ya han mostrado que la resistencia a colistina, sobre todo en *Klebsiella pneumoniae* ST-258, se ha vinculado con brotes intrahospitalarios de difícil control y coexistencia de carbapenemasas (Higueta-Gutiérrez et al., 2017). Asimismo, en el estudio de Balcaza et al. (2020), se ha documentado la presencia de enterobacterias resistentes a colistina en aguas superficiales como ríos o lagunas, donde se analizaron 70 muestras de agua y se recuperó 106 enterobacterias. Aunque con baja frecuencia del 14,7%, dentro de los aislamientos resistentes solo dos correspondieron a colistina, uno de manera aislada y otro en combinación con fosfomicina. Así mismo, se ha evidenciado que la resistencia a meropenem también está presente en efluentes hospitalarios, y puede verse comprometido fuera del ámbito clínico, ya que en un estudio realizado en cinco hospitales de Seúl se reportó que en uno de ellos se presentaron bacterias heterotróficas cultivables resistentes, entre las que se identificaron *Bacillus licheniformis*, *Pseudomonas geniculata* y *Bacillus megaterium*, cuyos perfiles presentaron multirresistencia, frente a más de doce antibióticos, además de tener la capacidad de persistir en aguas superficiales estériles durante sesenta días (Hwang & Kim, 2018). De manera similar, en México también se ha documentado la presencia de bacilos Gram negativos resistentes a meropenem en aguas residuales hospitalarias, presentándose mayormente *Enterobacterales* portadores de genes de carbapenemasas como blaKPC, blaNDM y blaVIM (Urzua-Abad et al., 2024).

Es importante mencionar que las muestras estudiadas se recolectaron de fuentes sin tratamiento previo, ya que provienen directamente de alcantarillas hospitalarias y de una laguna recreativa urbana, y por lo tanto tienen una mayor probabilidad de contener más bacterias resistentes. Esto se sabe ya, como lo señalan Sanchez et al. (2022) en las aguas residuales hospitalarias sin tratar se observaron concentraciones mayores de bacterias resistentes con niveles hasta 20 veces superiores para bacterias multirresistentes y 5 veces mayores para ciprofloxacina, en comparación con aguas sin tratar. Por ejemplo, Stange et al. (2019) demostraron que la aplicación de cloro (0,5 mg/L durante 30 min) redujo entre 3,8 y 5,6 log las bacterias viables, pero solo entre 0,8 y 2,8 log los genes de resistencia; además, señalaron que el tratamiento con radiación UV fue efectivo para inactivar bacterias, aunque apenas logró disminuir la presencia de ARGs (0–1 log). Así mismo, el estudio de Silvester et al. (2025) afirma que al comparar aguas residuales hospitalarias y comunitarias antes y después del tratamiento, muestran que sus resultados lograron reducir la carga bacteriana entre 0,3 y 1,5 log, y los ARGs entre 0,2 y 2 log, y así evidenciar que el tratamiento logra disminuir la cantidad de bacterias y genes de resistencia pero no las elimina por completo.

En este estudio, el ensamblaje bioinformático de *P. mirabilis* H-P4 SQ (3) presentó resultados que son coherentes con lo reportado previamente en diferentes contextos. Gmitter et al. (2019) describieron en su estudio dos cepas de *P. mirabilis* con tamaños genómicos de 3,81 y 3,93 Mb respectivamente, con contenidos GC de 38,5–38,7% y números de contigs más elevados (83 y 76), además de valores de N50 inferiores, de 95.718 y 105.852 pb, de forma similar, Botschner et al. (2023) informaron de un aislamiento de *P. mirabilis* en aguas residuales en Canadá con un genoma de ~3,94 Mb y un GC de 38,62%, compuesto por un promedio de 41 contigs y valores de N50 de 231.972 pb. En contraste, *S. maltophilia* H-P5 SQ (7) mostró resultados que son consistente con lo reportado en estudios previos. Li et al. (2022) describió a la KJ de *S. maltophilia* aisladas en Taiwán con un tamaño genómico de 4,88 Mb, 70 contigs, un N50 de 182.983 pb y un contenido GC de 65%. De forma similar, Cobe et al. (2025) reportaron aislamientos con genomas entre 4,74 y 4,99 Mb, con un número de contigs que osciló entre 33 y 73 y valores de N50 superiores (211–452 kb).

En cuanto a la detección de genes de resistencia a antimicrobianos (RAM) en bacterias ambientales como lo son *Proteus mirabilis* y *Stenotrophomonas maltophilia* ambas identificadas en este estudio, representan un problema para

los sistemas de salud, cuando aparecen en aguas contaminadas como alcantarillado hospitalario donde la presión selectiva es mayor. Según Bostanghadiri et al. (2024) *S. maltophilia* es de preocupación debido a su resistencia a una amplia gama de antimicrobianos, como: penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos, aminoglucósidos e incluso carbapenémicos, antibiótico que es considerado como última línea de tratamiento. En el caso de *P. mirabilis* también ha mostrado la emergencia de cepas multirresistentes (MDR) que representa un desafío clínico significativo especialmente en infecciones asociadas a catéteres urinarios y sepsis nosocomial (Hafiz et al., 2024).

En este contexto, el análisis bioinformático de *S. maltophilia* y *P. mirabilis* permitió identificar bombas de eflujo (MDR) específicas: *MacABC*, *SmrA* y *EmrEAB*, observadas respectivamente en cada una de las bacterias, y que son consistentes con las funciones reportadas por Majumdar et al. (2022). La bomba *MacABC* tipo ABC presenta las características descritas por estos autores, confiriendo resistencia intrínseca a aminoglucósidos, macrólidos y polimixinas, lo que se corresponde con los hallazgos en *S. maltophilia*. Igualmente, se menciona la bomba *EmrABE*, que participa en la extrusión de compuestos hidrofóbicos y diversos antibióticos como el ácido nalidixico y eritromicina. El estudio también menciona que el gen *SmrA*, como la primera bomba de eflujo tipo ABC caracterizada en *S. maltophilia*, implica capacidad de resistencia a tetraciclina y doxorubicina, antimicrobianos que se emplean contra este patógeno. Sin embargo, en este caso la sola presencia de *smrA* no es suficiente, ya que la cepa podría presentar sensibilidad fenotípica a tetraciclina. Esta observación coincide con Yakout & ElBaradei (2022), en donde mencionan que *smrA* por sí solo no confiere resistencia completa en ausencia de genes como *tetM*

En este estudio se observó resistencia a gentamicina lo que concuerda con el estudio de Lin et al. (2014) quienes señalaron que la cepa silvestre de *S. maltophilia* presenta resistencia notable frente a gentamicina con una MIC de 1024 µg/ml. Esta resistencia se atribuye principalmente a la bomba de eflujo *MacABCsm*, que se expresa de manera constitutiva y expulsa de forma activa no solo gentamicina, sino también a amikacina, kanamicina y tobramicina. El mismo estudio mostró que, incluso al tener mutantes de este operón los valores de MIC pueden disminuir llegando a 512 µg/ml para el caso de gentamicina, pero aun así mostrar una resistencia elevada.

En relación con la resistencia intermedia observada a colistina en *S. maltophilia*, esta presentó varios genes que pertenecen al operón *arnBCDATEF*; sin embargo, en el presente estudio no se detectó el gen *arnA*, que cataliza el primer paso de la ruta biosintética de L-4Ara4N. También se detectó *phoP* que se han vinculado en la literatura con la modificación de lipopolisacárido (LPS), y por lo tanto ayuda con la reducción del antibiótico. Estos hallazgos coinciden con Zhang et al. (2024), quienes identificaron la presencia de *arnA* perteneciente al operon *arnBCDATEF* y *phoP* en cepas ambientales resistentes encontradas en cuerpos de aguas naturales con concentraciones mínimas inhibitorias elevadas (hasta 640 mg/L). De forma complementaria, Osisiogu et al. (2024), señalaron que la resistencia frente a polimixinas en esta especie bacteriana está regulada por *phoP*. No menos importante es mencionar que estos genes ya han presentado resistencia en *P. aeruginosa* y *K. pneumoniae* con resistencia a colistina, como lo ha reportado Tunç et al. (2023).

Dentro de las bombas de eflujo en ambas bacterias se han reportado el conjunto de genes *acrA/B* y *tolC*, componentes clave del sistema de eflujo *AcrAB-TolC*, una de las bombas de eflujo más relevantes clínicamente en bacterias Gramnegativas. Según lo reportado por Jang (2023), *AcrAB-TolC* participa en la resistencia a múltiples antibióticos, expulsando compuestos de diversas clases, como: β-lactámicos (oxacilina, cloxacilina, piperacilina, bencilpenicilina), fencoles (cloranfenicol), tetraciclinas (tetraciclina, minociclina, doxiciclina), macrólidos (eritromicina, claritromicina), quinolonas (ciprofloxacina, levofloxacina), y rifamicinas (rifampicina), así como antisépticos y colorantes catiónicos como el bromuro de etidio y el cloruro de benzalconio. Debido a su amplio espectro de sustratos y su eficiencia de expulsión, el sistema *AcrAB-TolC* se lo considerada uno de los mecanismos con mayor impacto en la resistencia multidrogas (MDR).

La gran variedad de genes de resistencia a antimicrobianos en *S. maltophilia* muestra preocupación en ser una bacteria MDRO. En primer lugar la resistencia a β-lactámicos, es conferida por el gen *blaL1* que codifica una metalo-β-lactamasa (MBL), gen que es considerado intrínseco en *S. maltophilia*, y ha demostrado una amplia capacidad para hidrolizar carbapenémicos como meropenem, así como cefalosporinas de amplio espectro, incluyendo cefepime y ceftazidima (Yang et al., 2014).

De forma complementaria, la β-lactamasa Toho-1 detectada en este estudio también es capaz de conferir resistencia a cefalosporinas de amplio espectro como ceftazidima y cefepime, aunque con menor eficiencia contra esta última (Sapula et al., 2025). Igualmente un estudio mencionado por Celenza et al. (2008) una variante natural derivada de Toho-1 puede mostrar resistencia elevada frente a ceftazidima.

No menos importante es la detección en *S. maltophilia* los genes *ampG* y *lpoA* cuya presencia es de relevancia ya que implican en la regulación de mecanismo de resistencia a β-lactámicos. Según un estudio de Zeng & Lin (2013) estos genes no codifican enzimas inactivadoras directamente, sino que contribuyen en rutas internas capaces de activar respuestas frente a la presión antibiótica como lo es el caso del gen *ampG* que está asociado a la inducción de β-lactamasas en diversas bacterias gram negativas, asimismo *lpoA* ha sido vinculado con el aumento en la expresión del

gen *blaA* que es una  $\beta$ -lactamasa de clase A capaz de hidrolizar penicilinas y algunas cefalosporinas incluso en ausencia de antibióticos (Yin et al., 2015).

En el caso de *P. mirabilis*, se identificaron los genes *cat I* y *tet(J)\_1*, *tetA*, los cuales codifican mecanismos de resistencia frente a cloranfenicol y tetraciclinas respectivamente. El gen *cat I* codifica un cloranfenicol acetiltransferasa (CAT), enzima que inactiva el antibiótico cloranfenicol, mientras que *tet(J)\_1* y *tetA* confieren resistencia a tetraciclinas mediante un mecanismo de eflujo activo, aunque el antibiograma no incluyó prueba con doxiciclina, la presencia de este gen en la cepa analizada indica la existencia de determinantes genéticos funcionales frente a este grupo de antimicrobiano. Esto concuerda con Ma et al. (2022), quienes identificaron estos genes en conjunto de cepas de *P. mirabilis* en donde *cat I* fue hallado en el 97.75% de los aislados, e igualmente *tetJ* en el 100% se presentó entre los genes más prevalentes en este estudio.

Así mismo, en *P. mirabilis*, se detectaron genes relacionados con resistencia a polimixinas, específicamente para colistina, como *arnA* y *arnD*, genes los cuales forman parte del operón *arnBCADTEF* que están implicados en la modificación del lipopolisacárido (LPS). Por ejemplo, en el estudio de Gogry et al. (2021) y en el trabajo de Armbruster et al. (2017) han reportado la participación de este operón detectados en cepas clínicas de *P. mirabilis* asociadas a infecciones hospitalarias urinarias, lo que podría implicar un riesgo de estos genes se diseminen hacia cuerpos de agua.

También, en la cepa de *P. mirabilis* se identificó el gen *qnrD1* por medio de ABRicate, perteneciente a los mecanismos plasmídicos de resistencia a quinolonas (PMQR) que se lo ha asociado con resistencia de bajo nivel a fluoroquinolonas, que puede provocar un aumento moderado en la concentración mínima inhibitoria (MIC) y no siempre clasificar como clínicamente resistente. En el estudio de Poirel et al. (2012) se describe que las cepas con estos genes *qnr* se consideran determinantes de resistencia de bajo nivel. También, Martín-Gutiérrez et al. (2017) reportaron que la presencia de estos genes en cepas de *E. coli* demostraron que bajo condiciones de orina ácida este gen puede conducir a un fenotipo clínicamente resistente.

De igual forma, en *P. mirabilis* se identificó el gen *acr*, el cual codifica para la bomba de eflujo *AcrAB-TolC*, ampliamente descrita como determinante clave para la resistencia a  $\beta$ -lactámicos como la ampicilina en gram negativas, contribuyendo en reducir las concentraciones intracelulares del antibiótico (Jang, 2023). En concordancia, Visalli et al. (2003) demostraron que en *P. mirabilis* la alteración del gen *acrB* aumenta la sensibilidad no solo en ampicilina sino en diversos antibióticos.

La relación entre determinantes genéticos y perfiles fenotípicos discutido en ambas bacterias se resume en la **Tabla 7** (Resultados).

Con base en los resultados obtenidos y discutidos, es necesario explorar las razones por las que estos microorganismos abarcan estos genes y están presentes tanto en alcantarillado hospitalario. Como lo explican Chia et al. (2020) estas bacterias se pueden diseminar desde el ambiente hospitalario hacia el alcantarillado y se presentan en cuerpos de agua urbanos, donde la problemática se amplifica debido a factores adicionales de contaminación, y ya se ha documentado en países como Singapur, India, Bangladesh y España. Esta dispersión no siempre se debe a fallas técnicas evidentes, sino a aspectos frecuentemente pasados por alto, como la persistencia de biofilms en los sistemas de drenaje profundo o el uso de lavabos y duchas sin mecanismos eficaces de descontaminación. Los factores de contaminación, tanto directos como difusos, incluyen especialmente las descargas de aguas contaminadas provenientes de sistemas de alcantarillado mixtos o desbordados, instalaciones hospitalarias cercanas y escorrentías urbanas o agrícolas que vierten microorganismos resistentes y residuos antimicrobianos que suelen tener concentraciones elevadas de bacterias y compuestos farmacéuticos que ejercen presión selectiva que terminan en ambientes acuáticos, mostrando así una vía directa de estos microorganismos hacia el sistema de alcantarillado. (Nappier et al., 2020).

Aparte de los genes de resistencia (RAM), es fundamental considerar los factores de virulencia que podrían estar implicados en la persistencia ambiental y la potencial diseminación de estas bacterias. Entre los genes identificados en *P. mirabilis*, uno de los más relevantes es *mrpA* relacionado con la producción de fimbrias de tipo MR/P, estructuras que son clave para la adhesión y formación de biofilms ya que, según el estudio de Veisi et al. (2022), este gen se encontró con una mayor frecuencia en cepas que producían biopelículas más densas, lo que indicada estabilidad y cohesión en la comunidad bacterianas y persistencia en cuerpos de agua contaminada. Este patrón ha sido documentado por Armbruster & Mobley (2012) quienes señalan que la motilidad tipo swarming y la expresión de fimbrias están reguladas de forma coordinada por el sistema *mrpJ*, que reprime la producción de flagelos durante la fase de adhesión.

Por su parte, *S. maltophilia* se identificó el gen *smf-1*, que también codifica una fimbria tipo I y ha sido relacionada con la formación de biofilms. Este gen ha sido reportado en múltiples estudios en cepas aisladas de entornos hídricos contaminados, como por ejemplo, Cruz-Córdova et al. (2020), documentaron cepas portadoras de *smf-1* aisladas directamente de grifos, lavabos y sistemas de aguas hospitalarios, mostrando esta capacidad de permanecer en contacto

constante con agua. De forma complementaria, Pourramezan et al. (2023) también identificaron este gen en cepas aisladas de fuentes de agua hospitalaria, con potencial de diseminación hacia el exterior. Como se observa en la **Figura 8**, *S. maltophilia* mostró un patrón diferente con una proporción elevada de genes relacionados con proteasas, respuesta al estrés oxidativo y sistemas de secreción, mecanismos que han sido vinculados en estudios como el de Nas et al. (2019) quienes mencionan estos sistemas por su papel en la liberación de proteínas efectoras implicadas en competencia microbiana, modulación del entorno y persistencia en superficies abióticas.

Además de los factores de virulencia codificados en el genoma, muchas bacterias adquieren características adicionales que aumentan su potencial patogénico a través de elementos genéticos móviles (EGMs), como integrasas, transposasas, profagos o secuencias de inserción que facilitan la incorporación de genes de resistencia y virulencia mediante transferencia horizontal de genes, lo que puede convertir a estas cepas ambientales en amenazas clínicas emergentes (Partridge et al., 2018).

En este contexto, en *Proteus mirabilis*, se detectaron los genes *ISSba3*, *ISCep1*, *ISRor2* y *ISSSu9*, todos ellos correspondientes a distintas familias de secuencias de inserción (IS), de acuerdo con la base de datos ISFinder (Siguiet et al., 2006). También, se identificó el gen *tnpR* que codifica la resolvasa del transposón *Tn3*, clasificado dentro de la familia de estos transposones (Lima-Mendez et al., 2020). En el estudio de Montano et al. (2022) se describió que la función principal de estos genes es resolver los cointegrados formados durante la transposición replicativa, lo que implica completar el ciclo de movilidad de estos elementos genéticos. Por otra parte, en el estudio de Razavi et al. (2020) se reportó que los elementos de la familia *Tn3* mostraron asociaciones estadísticamente significativas con genes de resistencia a antibióticos en bacterias del género *Klebsiella*, además de una alta abundancia en metagenomas provenientes de ambientes acuáticos contaminados, como aguas residuales.

Por otro lado en *Stenotrophomonas maltophilia* se identificaron múltiples elementos genéticos móviles (EGMs) como secuencias de inserción (IS) de las familias *IS3*, *IS481* e *IS110* (por ejemplo, *ISStma2*, *ISStma12*, *ISStma8*), así como transposones tipo *Tn3* (*ISMpo10*) y *Tn10* (TetC), e integrasas de profago como *intA*. Aunque estos elementos no codifican directamente resistencia o virulencia, cumplen un rol clave en la transferencia horizontal de genes, facilitando su inserción, recombinación y persistencia en comunidades bacterianas. Esto contrasta con el estudio de Mbang et al. (2021) quienes identificaron elementos como *IS3* e *IS481*, integrones clase 1 y transposones *Tn21* y *Tn402* en *E. coli* multirresistentes aisladas del efluente final de una planta de tratamiento y un río receptor.

## 5. Conclusiones

Durante este estudio se identificó *Proteus mirabilis* y *Stenotrophomonas maltophilia* en muestras del alcantarillado hospitalario, donde ambas especies presentaron perfiles de resistencia que incluyen  $\beta$ -lactámicos, quinolonas, aminoglucósidos, polimixinas y genes de resistencia múltiple (MDR).

El análisis bioinformático reveló factores de virulencia identificados, como *mrpA* en *P. mirabilis* y *smf 1* en *S. maltophilia*, que presentan la capacidad de formar biofilms y persistir en sistemas acuáticos contaminados. Esto se suma a la presencia de elementos genéticos móviles que aumentan su potencial de colonización y transmisión.

Tanto el alcantarillado hospitalario como las aguas recreativas funcionan como reservorios y puntos de diseminación de genes de resistencia a antimicrobianos, por lo que estos hallazgos muestran la importancia de estos cuerpos de agua en el sur del Distrito Metropolitano de Quito estén incluidos dentro de los sistemas de control y vigilancia.

A pesar de su baja carga bacteriana, la laguna del Parque de las Cuadras se observó aislamientos capaces de crecer en presencia de meropenem y colistina, lo que indica la circulación de posibles bacterias ambientales resistentes a antibióticos de última línea incluso en entornos recreativos urbanos.

## 6. Recomendaciones

Desarrollar convenios entre universidades, municipios y hospitales para generar bases de datos abiertas sobre genes de resistencia y presencia de patógenos presentes en esta área del sur de Quito.

Evaluar el impacto de los interceptores y nuevas PTAR sobre la dinámica de resistencia mediante estudios longitudinales, asegurando que la infraestructura realmente reduzca la diseminación de genes.

## 7. Limitaciones

El presente estudio presenta varias limitaciones que deben ser consideradas al interpretar los resultados. En primer lugar, el muestreo se realizó de manera puntual y sin replicación, lo que limita la capacidad de evaluar variaciones temporales o estacionales en la presencia de bacterias resistentes y sus genes asociados. Asimismo, la selección de sitios de muestreo respondió a criterios de accesibilidad y conveniencia, por lo que los resultados podrían no reflejar de forma integral la heterogeneidad ambiental del área de estudio.

En segundo lugar, aunque se recuperaron múltiples aislamientos bacterianos, solo dos de ellos fueron sometidos a secuenciación genómica completa (WGS), lo que restringe el alcance de los análisis comparativos y la extrapolación de los hallazgos a una escala más amplia. A esto se suma la falta de un análisis filogenético detallado y la ausencia de un esquema completo de tipado multilocus (MLST), que habrían permitido esclarecer con mayor precisión las relaciones clonales y evolutivas entre los aislados.

Por último, el estudio se centró únicamente en bacterias Gram negativas cultivables, excluyendo microorganismos viables no cultivables (VBNC) y otros grupos microbianos de importancia potencial. Además, aunque se aplicaron herramientas bioinformáticas robustas, los resultados dependen de la calidad de los ensamblajes y de las bases de datos de referencia utilizadas, lo que puede limitar la detección de genes poco descritos o variantes emergentes.

## Referencias

1. Amann, S., Neef, K., & Kohl, S. (2019). Antimicrobial resistance (AMR). *European Journal of Hospital Pharmacy*, 26(3), 175-177.
2. Ajayi-Odoko, A. O., Ayansina, A. D. V., Ikhimiukor, O. O., Müller, J. A., & Adelowo, O. O. (2023). *Proteus mirabilis* isolated from untreated hospital wastewater, Ibadan, Southwestern Nigeria showed low-level resistance to fluoroquinolone and carried qnrD3 on Col3M plasmids. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(16), 47158-47167.
3. Armbruster, C. E., Forsyth-DeOrnellas, V., Johnson, A. O., Smith, S. N., Zhao, L., Wu, W., & Mobley, H. L. (2017). Genome-wide transposon mutagenesis of *Proteus mirabilis*: Essential genes, fitness factors for catheter-associated urinary tract infection, and the impact of polymicrobial infection on fitness requirements. *PLoS pathogens*, 13(6), e1006434.
4. Armbruster, C. E., & Mobley, H. L. T. (2012). Merging mythology and morphology: the multifaceted lifestyle of *Proteus mirabilis*. *Nature Reviews Microbiology*, 10(11), 743-754. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2890>
5. Babosan, A., Gaschet, M., Muggeo, A., Jové, T., Skurnik, D., Ploy, M. C., ... & Guillard, T. (2022). A qnrD-plasmid promotes biofilm formation and class I integron gene cassette rearrangements in *Escherichia coli*. *Antibiotics*, 11(6), 715.
6. Babosan, A., Skurnik, D., Muggeo, A., Pier, G. B., Baharoglu, Z., Jové, T., ... & Guillard, T. (2022). A qnr-plasmid allows aminoglycosides to induce SOS in *Escherichia coli*. *Elife*, 11, e69511.
7. Balcaza, J. A., Kurz, I., Macin, C., Mosquera, M. S., Sandi, A., López, D., ... & Merino, L. A. (2020). Resistencia a fosfomicina, tigeciclina y colistina en enterobacterias provenientes de ambientes acuáticos del Chaco, Argentina. *Revista de Ciencia y Tecnología*, (34), 1-10.
8. Bowen, A., Cáceres, W., & Alarcón, M. (2019). Estudio Observacional: Uso de Antimicrobianos en la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital SOLCA Guayaquil – Ecuador. Publicaciones del Proyecto de Optimización del Uso de Antibióticos en Latinoamérica (PROA). Recuperado de <https://www.researchgate.net/publication/353781857>
9. Bostanghadiri, N., Sholeh, M., Navidifar, T., Dadgar-Zankbar, L., Elahi, Z., van Belkum, A., & Darban- Sarokhalil, D. (2024). Global mapping of antibiotic resistance rates among clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia*: a systematic review and meta-analysis. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 23(1), 26.
10. Bharat, A., Petkau, A., Avery, B. P., Chen, J. C., Folster, J. P., Carson, C. A., ... & Mulvey, M. R. (2022). Correlation between phenotypic and in silico detection of antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* in Canada using Staramr. *Microorganisms*, 10(2), 292.
11. Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30(15), 2114-2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
12. Berendonk, T. U., Manaia, C. M., Merlin, C., Fatta-Kassinos, D., Cytryn, E., Walsh, F., ... & Martinez, J. L. (2015). Tackling antibiotic resistance: the environmental framework. *Nature reviews microbiology*, 13(5), 310-317
13. Bortolaia, V., Kaas, R. S., Ruppe, E., Roberts, M. C., Schwarz, S., Cattoir, V., ... & Aarestrup, F. M. (2020). ResFinder 4.0 for predictions of phenotypes from genotypes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 75(12), 3491-3500.
14. Botschner, W., Davidson, H., Lawal, O. U., Parreira, V. R., & Goodridge, L. (2023). Draft genome sequences of two *Proteus mirabilis* isolates recovered from a municipal wastewater treatment plant in Ontario, Canada. *Microbiology Resource Announcements*, 12(10), e00559-23.
15. Celenza, G., Luzzi, C., Aschi, M., Segatore, B., Setacci, D., Pellegrini, C., ... & Perilli, M. (2008). Natural D240G Toho-1 mutant conferring resistance to ceftazidime: biochemical characterization of CTX- M-43. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 62(5), 991-997.
16. Cobe, B. L., Ozer, E. A., Nozick, S. H., Hauser, A. R., & Cianciotto, N. P. (2025). Draft genome sequences of *Stenotrophomonas maltophilia* strains UPSm1, UPSm3, and UPSm5 and *Stenotrophomonas pavarii* strain UPSm2. *Microbiology Resource Announcements*, e00313-25.
17. Chia, P. Y., Sengupta, S., Kukreja, A., SL Ponnampalavanar, S., Ng, O. T., & Marimuthu, K. (2020). The role of hospital environment in transmissions of multidrug-resistant gram-negative organisms. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 9, 1-11.
18. Cruz-Córdova, A., Barrios-Camacho, H., Avelino-Zauco, R., Ochoa, S. A., López-Martínez, B., Arellano- Galindo, J., Navarro-Ocaña, A., Hernández-Castro, R., & Torres, J. (2020). *Stenotrophomonas maltophilia* clinical isolates from faucet biofilms and patients: Virulence traits and interactions with epithelial cells. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 50. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00050>
19. Carey, A. M., Capik, S. F., Giebel, S., Nickodem, C., Piñeiro, J. M., Scott, H. M., ... & Norman, K. N. (2022). Prevalence and profiles of antibiotic resistance genes mph (A) and qnrB in extended- spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* isolated from dairy calf feces. *Microorganisms*, 10(2), 411.
20. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2024). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing (34.<sup>a</sup> ed.; Suplemento M100) [PDF]. Recuperado de [https://www.darvashco.com/wp-content/uploads/2024/07/CLSI-2024\\_compressed-1.pdf](https://www.darvashco.com/wp-content/uploads/2024/07/CLSI-2024_compressed-1.pdf)
21. Dickey, A. M., Schmidt, J. W., Bono, J. L., & Guragain, M. (2024). The GEA pipeline for characterizing *Escherichia coli* and *Salmonella* genomes. *Scientific Reports*, 14, 13257. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-63832-z>
22. de Sales, R. O., Migliorini, L. B., Puga, R., Kocsis, B., & Severino, P. (2020). A Core Genome Multilocus Sequence Typing Scheme for *Pseudomonas aeruginosa*. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1049. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01049>
23. Domínguez, D. C., Chacón, L. M., & Wallace, D. (2021). Anthropogenic activities and the problem of antibiotic resistance in Latin America: A water issue. *Water*, 13(19), 2693. <https://doi.org/10.3390/w13192693>

24. Escapa, I. F., Chen, T., Huang, Y., Gajare, P., Dewhirst, F. E., & Lemon, K. P. (2018). New insights into human nostril microbiome from the expanded human oral microbiome database (eHOMD): a resource for the microbiome of the human aerodigestive tract. *Msystems*, 3(6), 10-1128.
25. Fundación Tierra Nueva. (2023). Protocolo de Gestión de Desechos del Hospital Padre Carollo (Versión 03). Departamento de Epidemiología.
26. Fernández-Cuenca, F., Martínez-Martínez, L., & Pascual, Á. (2020). Evolución de la resistencia antimicrobiana en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* productores de infecciones invasivas en el sur de España. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 38(4), 150-154.
27. Gmitter, D., Czerwonka, G., Drewnowska, J. M., Swiecicka, I., & Kaca, W. (2019). Draft genome sequences of *Proteus mirabilis* K1609 and K670: A model strains for territoriality examination. *Current Microbiology*, 76(2), 144-152.
28. Gogry, F. A., Siddiqui, M. T., Sultan, I., & Haq, Q. M. R. (2021). Current update on intrinsic and acquired colistin resistance mechanisms in bacteria. *Frontiers in medicine*, 8, 677720.
29. Halawa, E. M., Fadel, M., Al-Rabia, M. W., Behairy, A., Nouh, N. A., Abdo, M., ... & Abdeen, A. (2024). Antibiotic action and resistance: updated review of mechanisms, spread, influencing factors, and alternative approaches for combating resistance. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1305294.
30. Han, B., Ma, L., Yu, Q., Yang, J., Su, W., Hilal, M. G., ... & Li, H. (2022). The source, fate and prospect of antibiotic resistance genes in soil: A review. *Frontiers in Microbiology*, 13, 976657.
31. Hendriksen, R. S., Bortolaia, V., Tate, H., Tyson, G. H., Aarestrup, F. M., & McDermott, P. F. (2019). Using genomics to track global antimicrobial resistance. *Frontiers in public health*, 7, 242.
32. Hafiz, T. A., Alghamdi, G. S., Alkudmani, Z. S., Alyami, A. S., AlMazyed, A., Alhumaidan, O. S., ... & Alotaibi, F. E. (2024). Multidrug-resistant *Proteus mirabilis* infections and clinical outcome at tertiary hospital in Riyadh, Saudi Arabia. *Infection and Drug Resistance*, 571-581.
33. Higuera-Gutiérrez, L. F., & Jiménez-Quiceno, J. N. (2017). Brotes hospitalarios de bacterias resistentes a colistina: revisión sistemática de la literatura. *Infectio*, 21(4), 214-222.
34. Hwang, S. H., & Kim, Y. J. (2018). Meropenem-resistant bacteria in hospital effluents in Seoul, Korea. *Environmental Monitoring and Assessment*, 190(11), 673.
35. Illumina. (2011). Quality Scores for Next-Generation Sequencing. Illumina. [https://www.illumina.com/documents/products/technotes/technote\\_Q-Scores.pdf](https://www.illumina.com/documents/products/technotes/technote_Q-Scores.pdf)
36. Irfan, M., Almotiri, A., & AlZeyadi, Z. A. (2022). Antimicrobial resistance and its drivers—a review. *Antibiotics*, 11(10), 1362.
37. Jang, S. (2023). AcrAB–TolC, a major efflux pump in Gram negative bacteria: Toward understanding its operation mechanism. *BMB reports*, 56(6), 326.
38. 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.
39. Quitoinforma. (2024, noviembre 30). La laguna del parque Las Cuadras se rehabilita en beneficio de todas las familias del sur. Empresa Pública Metropolitana de Movilidad y Obras Públicas. Recuperado de [URL]. <https://www.quitoinforma.gov.ec/2024/11/30/la-laguna-del-parque-las-cuadras-se-rehabilita-en-beneficio-de-todas-las-familias-del-sur/>
40. Li, L. H., Huang, H. H., Yang, T. C., & Wu, C. J. (2022). Draft Genome Sequence of *Stenotrophomonas maltophilia* KJ, a Clinical Isolate from Taiwan. *Microbiology Resource Announcements*, 11(8), e00058-22.
41. Liguori, K., Keenum, I., Davis, B. C., Calarco, J., Milligan, E., Harwood, V. J., & Pruden, A. (2022). Antimicrobial resistance monitoring of water environments: a framework for standardized methods and quality control. *Environmental science & technology*, 56(13), 9149-9160.
42. Lopez, N. V., Farsar, C. J., Harmon, D. E., & Ruiz, C. (2020). Urban and agricultural soils in Southern California are a reservoir of carbapenem-resistant bacteria. *Microbiologyopen*, 9(6), 1247-1263.
43. Lin, Y. T., Huang, Y. W., Liou, R. S., Chang, Y. C., & Yang, T. C. (2014). MacABCsm, an ABC-type tripartite efflux pump of *Stenotrophomonas maltophilia* involved in drug resistance, oxidative and envelope stress tolerances and biofilm formation. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(12), 3221-3226.
44. Lima-Mendez, G., Oliveira Alvarenga, D., Ross, K., Hallet, B., Van Melderen, L., Varani, A. M., & Chandler, M. (2020). Toxin-antitoxin gene pairs found in Tn 3 family transposons appear to be an integral part of the transposition module. *MBio*, 11(2), 10-1128.
45. Martín-Gutiérrez, G., Rodríguez-Martínez, J. M., Pascual, Á., Rodríguez-Beltrán, J., & Blázquez, J. (2017). Plasmidic qnr genes confer clinical resistance to ciprofloxacin under urinary tract physiological conditions. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 61(4), 10-1128.
46. Ma, W. Q., Han, Y. Y., Zhou, L., Peng, W. Q., Mao, L. Y., Yang, X., ... & Lei, C. W. (2022). Contamination of *Proteus mirabilis* harbouring various clinically important antimicrobial resistance genes in retail meat and aquatic products from food markets in China. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1086800.
47. Moretto, V. T., Cordeiro, S. M., Bartley, P. S., Silva, L. K., Ponce-Terashima, R., Reis, M. G., ... & Barbosa, L. M. (2021). Antimicrobial-resistant enterobacteria in surface waters with fecal contamination from urban and rural communities. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 54, e0724-2020.
48. Mbang, J., Amoako, D. G., Abia, A. L. K., & Bester, L. A. (2021). Genomic insight of multidrug-resistant *Escherichia coli* from wastewater treatment plant and receiving river waters in South Africa. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 636715. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.636715>
49. Majumdar, R., Karthikeyan, H., Senthilnathan, V., & Sugumar, S. (2022). Review on *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging multidrug-resistant opportunistic pathogen. *Recent Patents on Biotechnology*, 16(4), 329-354.
50. Manaia, C. M., Rocha, J., Scaccia, N., Marano, R. B. M., Radu, E., Biancullo, F., ... & Berendonk, T. U. (2018). Antibiotic resistance in wastewater treatment plants: tackling the black box. *Environment International*, 115, 312-324.
51. Marston, H. D., Dixon, D. M., Knisely, J. M., Palmore, T. N., & Fauci, A. S. (2016). Antimicrobial resistance. *Jama*, 316(11), 1193-1204.
52. Montano, S. P., Rowland, S. J., Fuller, J. R., Burke, M. E., MacDonald, A. I., Boocock, M. R., ... & Rice, P. A. (2023). Structural basis for topological regulation of Tn3 resolvase. *Nucleic Acids Research*, 51(3), 1001-1018.
53. Michaelis, C., & Grohmann, E. (2023). Horizontal gene transfer of antibiotic resistance genes in biofilms. *Antibiotics*, 12(2), 328.

54. Naghavi, M., Vollset, S. E., Ikuta, K. S., Swetschinski, L. R., Gray, A. P., Wool, E. E., ... & Dekker, D. M. (2024). Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. *The Lancet*, 404(10459), 1199-1226.
55. Nappier, S. P., Liguori, K., Ichida, A. M., Stewart, J. R., & Jones, K. R. (2020). Antibiotic resistance in recreational waters: state of the science. *International journal of environmental research and public health*, 17(21), 8034.
56. Nas, M. Y., White, R. C., DuMont, A. L., Lopez, A. E., & Cianciotto, N. P. (2019). *Stenotrophomonas maltophilia* encodes a VirB/VirD4 Type IV secretion system that modulates apoptosis in human cells and promotes competition against heterologous bacteria, including *Pseudomonas aeruginosa*. *Infection and Immunity*, 87(9), e00457-19. <https://doi.org/10.1128/IAI.00457-19>
57. Neal, J. W., Troxel, B. D., Payton, M. E., & Fitch, G. M. (2023). Monitoring water quality at recreational sites using IDEXX methods: A case study from Oklahoma, USA. *Water, Air, & Soil Pollution*, 234(6), 355. <https://doi.org/10.1007/s11270-023-06355-z>
58. Ortega-Paredes, D., Barba, P., Mena-López, S., Espinel, N., Crespo, V., & Zurita, J. (2020). High quantities of multidrug-resistant *Escherichia coli* are present in the Machángara urban river in Quito, Ecuador. *Journal of water and Health*, 18(1), 67-76.
59. Osiyogu, E. U., Singh, B., Feglo, P. K., & Duedu, K. O. (2024). Detection of PhoP-mediated colistin resistance in Gram-negative bacteria without *mcr* genes in human population in the Ho Municipality, Ghana. *Heliyon*, 10(21).
60. Paz, M., Muzio, H., Gemini, V., Magdaleno, A., Rossi, S., Korol, S., & Moreton, J. (2004). Aguas residuales de un Centro Hospitalario de Buenos Aires, Argentina: Características químicas, biológicas y toxicológicas. *Hig. Sanid. Ambient*, 4, 83-88.
61. Partridge, S. R., Kwong, S. M., Firth, N., & Jensen, S. O. (2018). Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance. *Clinical microbiology reviews*, 31(4), 10-1128.
62. Poirel, L., Cattoir, V., & Nordmann, P. (2012). Plasmid-mediated quinolone resistance; interactions between human, animal, and environmental ecologies. *Frontiers in microbiology*, 3, 24.
63. Posada-Perlaza, C. E., Ramirez-Rojas, A., Porras, P., Adu-Oppong, B., Botero-Coy, A. M., Hernandez, F., ... & Zambrano, M. M. (2019). Bogota river anthropogenic contamination alters microbial community and promotes spread of antibiotic resistance genes. *Sci Rep* 9 (1): 11764.
64. Pourramezan, Z., Saeidi, S., Goli, H. R., & Farsiani, H. (2023). Distribution of quorum sensing, biofilm formation and antimicrobial resistance genes in *Stenotrophomonas maltophilia* strains isolated from water sources. *BMC Microbiology*, 23, 201. <https://doi.org/10.1186/s12866-023-03008-3>
65. Razavi, M., Kristiansson, E., Flach, C. F., & Larsson, D. J. (2020). The association between insertion sequences and antibiotic resistance genes. *Msphere*, 5(5), 10-1128.
66. Rodríguez, E. A., & Jiménez-Quiceno, J. N. (2023). Resistencia bacteriana a antibióticos en ambientes acuáticos: origen e implicaciones para la salud pública. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 41(3), e03.
67. Siguier, P., Pérochon, J., Lestrade, L., Mahillon, J., & Chandler, M. (2006). ISfinder: the reference centre for bacterial insertion sequences. *Nucleic acids research*, 34(suppl\_1), D32-D36.
68. SAG. (2025). Metodología de recuento de PMCP. Recuperado de <https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/d-ris-rai-pa-002-metodologia-recuento-pmcp-v01-final2ok.pdf>
69. Sociedad Española de Medicina Clínica. (2021). Procedimiento microbiológico para identificación de microorganismos patógenos [PDF]. Recuperado de <https://seimc.org/wp-content/uploads/2025/06/seimc-procedimiento74.pdf>
70. Safar, H., Alatar, F., Nasser, K., & Mustafa, A. S. (2023). The impact of applying various de novo assembly and correction tools on the identification of genome characterization, drug resistance, and virulence factors of clinical isolates using ONT sequencing. *Scientific Reports*, 13, 12345.
71. Stange C, Sidhu JPS, Toze S, Tiehm A. Comparative removal of antibiotic resistance genes during chlorination, ozonation, and UV treatment. *Int J Hyg Environ Health*. 2019 Apr;222(3):541-548. doi: 10.1016/j.ijheh.2019.02.002. Epub 2019 Feb 7. PMID: 30738743.
72. Silvester, R., Woodhall, N., Nurmi, W., Muziasari, W., Cross, G., Malham, S. K., & Jones, D. L. (2025). High-throughput qPCR profiling of antimicrobial resistance genes and bacterial loads in wastewater and receiving environments. *Environmental Pollution*, 373, 126096
73. Sanchez, D. F., Kisieliene, L., Lindholst, S., Hansen, A. V., Sanderbo, J., Løppenthien, B. K., ... & Chhetri, R. K. (2022). Antibiotic-resistant bacteria disinfection in untreated hospital wastewater using peracetic acid with short contact time. *Environmental Science: Water Research & Technology*, 8(11), 2580-2588.
74. Sapula, S. A., Wang, Y., Hart, B. J., Whittall, J. J., & Venter, H. (2025). The continued evolution of the L2 cephalosporinase in *Stenotrophomonas maltophilia*: A key driver of beta-lactam resistance. *Biochemical Journal*, 482(3), 119–133. <https://doi.org/10.1042/BCJ20240478>
75. State Water Resources Control Board. (2017). Quality Assurance Project Plan for Bacteria Objectives for Inland Surface Waters. California Environmental Protection Agency. [https://www.waterboards.ca.gov/water\\_issues/programs/tmdl/records/state\\_board/2017/4466.pdf](https://www.waterboards.ca.gov/water_issues/programs/tmdl/records/state_board/2017/4466.pdf)
76. Seemann, T. (2014). Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics*, 30(14), 2068-2069.
77. Tunç, M. N., Guéneau, V., Loux, V., Del Campo, R., Carballido Lopez, R., & Briandet, R. (2024). Genome sequences of four colistin-resistant ESKAPE bacterial strains isolated from patients within the same hospital. *Microbiology Resource Announcements*, 13(1), e00874-23.
78. Thiry, D., Berrah, A., Evrard, J., Duprez, J. N., Mainil, J. G., & Saulmont, M. (2019). Assessment of two selective agar media to isolate colistin-resistant bovine *Escherichia coli*: Correlation with minimal inhibitory concentration and presence of *mcr* genes. *Journal of microbiological methods*, 159, 174- 178.
79. Taddeucci-Rocha, G., de Oliveira Costa, V., Martins da Silva, S. V., Britto Gonçalves, J., Chilique Zambão da Silva, N., Maiolino Garnica, M., & Picão, R. C. (2025). Massive culture-based approach for the screening of AmpC, ESBL, and carbapenemase producers from rectal swabs. *Microbiology Spectrum*, 0(0), e00157-25. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00157-25>
80. Tang, K. W. K., Millar, B. C., & Moore, J. E. (2023). Antimicrobial resistance (AMR). *British Journal of Biomedical Science*, 80, 11387.
81. Urzua-Abad, M. M., Aquino-Andrade, A., Castelan-Vega, J. A., Merida-Vieyra, J., Ribas-Aparicio, R. M., Belmont-Monroy, L., ... & Aparicio-Ozores, G. (2024). Detection of carbapenemases in Enterobacterales and other Gram-negative bacilli recovered from hospital and municipal wastewater in Mexico City. *Scientific Reports*, 14(1), 26576.

82. Vasquez, L. A., de Carvalho, A. P. A., Machado, E. C., Leal, C. D., Mladenov, N., & de Araújo, J. C. (2025). Investigation of two sewersheds in Belo Horizonte, Brazil reveals hospital and municipal wastewaters in a hospital-dominated sewershed as priority sources for antibiotic resistance spread to the environment. *Cleaner Water*, 100076.
83. Visalli, M. A., Murphy, E., Projan, S. J., & Bradford, P. A. (2003). AcrAB multidrug efflux pump is associated with reduced levels of susceptibility to tigecycline (GAR-936) in *Proteus mirabilis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 47(2), 665-669.
84. Veisi, M., Hosseini-Nave, H., & Tadjrobehkar, O. (2022). Biofilm formation ability and swarming motility are associated with some virulence genes in *Proteus mirabilis*. *Iranian Journal of Microbiology*, 14(5), 530-538. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC12220229/>
85. Van Goethem, M. W., Pierneef, R., Bezuidt, O. K., Van De Peer, Y., Cowan, D. A., & Makhallanyane, T. P. (2018). A reservoir of 'historical' antibiotic resistance genes in remote pristine Antarctic soils. *Microbiome*, 6(1), 40.
86. World Health Organization. (2021). Guidelines on recreational water quality: Volume 1, coastal and fresh waters. Geneva: World Health Organization. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240031302>
87. Wang, Y., He, T., Shen, Z., & Wu, C. (2018). Antimicrobial resistance in *Stenotrophomonas* spp. Antimicrobial resistance in bacteria from livestock and companion animals, 409-423.
88. World Health Organization. (2021). Guidelines on recreational water quality: Volume 1. Coastal and fresh waters. World Health Organization. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK572632/>
89. Wu, J., Thompson, T. P., O'Connell, N. H., McCracken, K., Powell, J., Gilmore, B. F., Dunne, C. P., & Kelly, S. A. (2025). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing bacteria from hospital wastewater pipes: Isolation, characterization and biofilm control using common disinfectants. *Journal of Hospital Infection*, 156, 34-49. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2024.11.013>
90. Yang, Z., Liu, W., Cui, Q., Niu, W., Li, H., Zhao, X., ... & Yuan, J. (2014). Prevalence and detection of *Stenotrophomonas maltophilia* carrying metallo- $\beta$ -lactamase bla L1 in Beijing, China. *Frontiers in microbiology*, 5, 692
91. Yakout, M. A., & ElBaradei, A. (2022). Emergence of *Stenotrophomonas maltophilia* co-harboring tetM and smqnr and over-expressing different efflux pumps among clinical isolates from tertiary care hospitals in Alexandria, Egypt. *Microbes and Infectious Diseases*, 3(2), 300-308. <https://doi.org/10.21608/mid.2022.123630.1192>
92. Yin, J., Sun, Y., Mao, Y., Jin, M., & Gao, H. (2015). PBP1a/LpoA but not PBP1b/LpoB are involved in regulation of the major  $\beta$ -lactamase gene blaA in *Shewanella oneidensis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(6), 3357-3364. <https://doi.org/10.1128/AAC.04669-14>
93. Zhang, S., Huang, J., Zhao, Z., Cao, Y., & Li, B. (2020). Hospital wastewater as a reservoir for antibiotic resistance genes: a meta-analysis. *Frontiers in public health*, 8, 574968.
94. Zeng, X., & Lin, J. (2013). Beta-lactamase induction and cell wall metabolism in Gram-negative bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 4, 128. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00128>
95. Zhang, S., Huang, J., Zhao, Z., Cao, Y., & Li, B. (2020). Hospital wastewater as a reservoir for antibiotic resistance genes: a meta-analysis. *Frontiers in public health*, 8, 574968.
96. Zhang, T., Wu, H., Ma, C., Yang, Y., Li, H., Yang, Z., ... & Jin, M. (2024). Emergence of colistin-resistant *Stenotrophomonas maltophilia* with high virulence in natural aquatic environments. *Science of the Total Environment*, 933, 173221.



**Anexo 2.** Genes de virulencia

<i>P. mirabilis</i>	<i>Genes</i>
<i>Regulación</i>	PrtR, SutR, RcsA, FlhD, FlhC, BaeR, DegU, BetI, NorG, SlyA, TyrR, CysB, BenM, YebC, YidZ, DmlR, KdpE, HexR, AcuR, TreR, FarR, UnpA, DsdC, XynR, DauR, AcrR, BolA, PhoB, GlvR, YbbH, NimR, ChbR, CueR, MurR, ArsR2, SgrR, LeuO, MraZ, ArgP, MetR, BtsR, YhaJ, GalR, IscR, QseF, GntR, CpxR, GabR, PchR, ZntR, CRP, HdrR, sasA.
<i>Flagelos</i>	FlgB, FlgC, FlgE, FlgF, FlgG, FlgH, FlgI, FlgK, FlgL, FlhA, FlhB, FlhC, FlhD, FliE, FliF, FliG, FliH, FliI, FliJ, FliK, FliL, FliM, FliN, FliO, FliP, FliQ, FliR, FliS, FliT, FliU, FliV, FliW, FliX, FliY, MotA, MotB
<i>Motilidad</i>	fimA_1, fimA_2, fimA_3, fimA_4, fimC, fimD_1, fimD_2, fimD_3, fimF, fimG_1, fimG_2, fliA, fliC2_1, fliC2_2, fliD, fliE, fliF, fliG, fliH, fliI, fliJ, fliS, fliT, fliZ, motA, rssA, rssB_1
<i>Proteasa</i>	bepA, clpA, clpS, degQ, degS, ftsH, glpG, hflC, hflK, hflX, hslU, hslV, htpX_1, htpX_2, hybD, hycI, lon_1, lon_2, pmbA, ptrA, ptrB, rseP, sohB, sppA, stiP, tesA, yhbU
<i>Fimbrias</i>	mrpA_1, mrpA_2, mrpA_3, mrpA_4, mrpA_5, mrpA_6, pmfA, ecpA, ecpB, ecpC, ecpE, sfmC_1, sfmF, lpfA_1, lpfB, yraI, papA_1, yfcQ_2, yfcQ_1, yfcQ_3, sfaA, sfmC_2, elfG, papA_2, papH, elfD
<i>Adhesión</i>	ail, apxIB, bamC, bamD, fhuA, fimD_1, ihfA, ihfB, invA, lolB, lpp1, ompW, papC_1, sfmD, slp, slyB, tomB, yraJ_1
<i>Estrés oxidativo</i>	srkA, uspA, uspB, uspE, uspF_1, uspF_2, uspF_3, uspF_4, uspG_1, uspG_2, ywrO
<i>Secreción</i>	epsE, epsF_1, esiB, fliS, prsD, prsE, sctC_1, sctC_2, secM
<i>Ureasa</i>	ureA, ureB, ureC, ureD, ureE, ureF, ureG_1, ureG_2, ureR
<i>Biofilm</i>	bigR, bssS, ecpD, ehaG, fimH, luxS, yadA
<i>Hemolisinas</i>	apxIB, hpmA, ltxD, phoQ, shlB

<i>S. maltophilia</i>	<i>Genes</i>
<i>Regulación</i>	bvgS_1, bvgS_2, aspA, plcN, phoP_2, phoP_3, phoP_4, phoP_5, Sas, SasA, SasA,, ArcB, protein, RpfG, NtrC, Ac., ArgP, Bet!, DmiR, HmeR., MurR., Pot, PrpR, Rut, DmlR, PR, Por, NimR, CdhR., Cyn, CysB, MetR, PerR., Tp, ZntR, NorG, TtgR, N-alpha-methyltransferase, ammonia-lyase, HisB, HisIE, ligase, Mall, P-II, P-II, PhoR, Rega., regulator, RpoS, pen, DegU, CusS, CreC, Reck, OmpR, Desk., PhoP, KdpE, BvgS, CreB, liaR., HurA, RseP, Res, YbaQ_, BarA., ZraR, YteD_, LeuO, KdpD, QseC, RcsB., TxA, regulator, YidZ, Gach, GacA, YybR, regX3, GlvR, TyrR, DmlR, SlyA, BolA, HexR, DauR, AcrR, UnpA, TreR, PhoB, FarR, YebC, BaeS, IgrR, GntR, IscR, PhoR, CRP, HdrR.
<i>Flagelos</i>	flgB, flgC, flgD, flgE, flgF, flgG, flgH, flgI, flhA_1, flhA_2, flhB, fliD, fliE, fliF, fliG, fliI, fliM, fliN, fliP, fliS, phoP_1, pilT_1, pilT_2, pilT_3, ylxH.
<i>Motilidad</i>	motA, motB_1, motB_2, swrC, ycgR
<i>Proteasa</i>	bepA_2, bepA_3, bepA_4, bepA_5, bepA_6, bprV_2, clpA, clpP_1, clpP_2, clpP_3, clpX, degP, ftsH_1, ftsH_2, ftsH_3, hflC, hflK, hslU, hslV, htpX, loiP, paiB, pmbA_1, pmbA_2, prc_1, prc_2, rseP, sppA, tldD_1, tldD_2, tldD_3
<i>Fimbrias</i>	cfaB, cfaE, fimA, fimD, ompA_1, ompA_2, pilA, pilQ, smf-1, yadV
<i>Adhesión</i>	Protein virB10, bpaC, ehaG, estB_1, fpvA_1, qacA_1, qacA_2, virD4
<i>Estrés oxidativo</i>	adiA, adiC, ahpC, ahpD, ahpF_1, ahpF_2, ohrB, oxyR, soxR, viuB
<i>Secreción</i>	PtlF, Type IV secretion system protein VirB11, VirB11, cvaA, epsE, epsF_1, epsF_2, epsF_3, esiB, fliS, hxcR, prsE, ptlF, sctC, sctC_1, sctC_2, secM, virB10, virB4_1, virB4_2, xcpT_1, xcpT_2, xpsD, xpsE
<i>Biofilm</i>	bigR, mrkD, pgaA, pgaB, pgaC
<i>Hemolisinas</i>	hipA, ltxB, pasT, tdeA

Orden: **25042501**  
 Fecha: 14/05/2025  
 Página: 1 de 1



## REPORTE DE SECUENCIACIÓN NGS N: 25042501

### 1. INFORMACIÓN DE CLIENTE:

<b>Cliente:</b>	ANDRÉS HERRERA	<b>Ciudad:</b>	QUITO
<b>Institución:</b>	Universidad Internacional SEK	<b>Muestras:</b>	04
<b>Teléfono:</b>	0984066301	<b>Recepción:</b>	25-04-2025
<b>Correo:</b>	manuel.herrera@uisek.edu.ec		

### 2. ANALISIS REALIZADO:

El análisis de la secuenciación genética incluye:  
 Secuenciación de ADN total

### 3. RESULTADOS:

MUESTRA ID	NOMBRE	MUESTRA		LIBRERÍA		SECUENCIACIÓN	
		Conc. (ng/μL)	Integridad (pb) > 1500 pb	Conc. (ng/μL)	Tamaño	Q30 > 70%	Lecturas
25042501-001-WGS	X	59	SI	13	~600	93.3	425167
25042501-002-WGS	J	28	SI	12	~600	90.2	445449
25042501-003-WGS	16	64	SI	14	~600	88.9	458417
25042501-004-WGS	12	98	SI	13	~600	94.6	509676

### 4. INTERPRETACIÓN:

No hay observaciones respecto a los resultados obtenidos

Realizado por:

Pablo Erazo  
 Ingeniero en Biotecnología  
**BIOSEQUENCE S.A.S**

Validado por:

Paola Astudillo  
 Bioquímica Farmacéutica  
**BIOSEQUENCE S.A.S**

**Anexo 3.** Reporte de secuenciación NGS - Biosequence

