

## Índice

I. Introducción .....	1
1. LAS RESISTENCIAS A ANTIMICROBIANOS .....	2
1.1. La problemática de las resistencias a antimicrobianos desde la perspectiva “One Health” .....	3
1.2. Antecedentes históricos .....	4
1.3. Mecanismos de resistencia a los antibióticos.....	10
1.4. Base genética de las resistencias a antibióticos .....	12
1.4.1. Mutación cromosómica .....	13
1.4.2. Transferencia horizontal de genes .....	13
1.5. Principales familias de genes implicados en la resistencia a los antibióticos .....	15
1.5.1. Genes de resistencia a antibióticos betalactámicos.....	15
1.5.2. Gen de resistencia a meticilina .....	19
1.5.3. Genes de resistencia a tetraciclinas.....	19
1.5.4. Genes de resistencia a las sulfonamidas y trimetoprim.....	20
1.5.5. Genes de resistencia a los antibióticos macrólidos.....	21
1.5.6. Genes de resistencia a quinolonas .....	21
1.5.7. Genes de resistencia a los antibióticos aminoglucósidos.....	22
1.5.8. Genes de resistencia a la polimixina.....	22
1.5.9. Genes de resistencia a los antibióticos glucopéptidos.....	23
1.5.10. Genes de resistencia a los anfenicoles.....	23
1.6. El problema de las multirresistencias .....	24
1.7. El medio ambiente como reservorio y agente de dispersión de determinantes de resistencia a antibióticos .....	25
2. PAPEL DEL AGUA EN LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS.....	28
2.1. La calidad microbiológica del agua como factor crítico en la Salud Pública mundial .....	28
2.2. Las aguas como reservorio y vehículo de diseminación de resistencias .....	31

<b>2.3. Fuentes antropogénicas de determinantes de resistencia en el agua</b> .....	33
<b>2.3.1. Centros sanitarios</b> .....	35
<b>2.3.2. Industrias de producción de antibióticos</b> .....	36
<b>2.3.3. Aguas residuales urbanas</b> .....	37
<b>2.3.4. Agricultura, ganadería y acuicultura</b> .....	38
<b>2.4. Factores impulsores de la aparición y dispersión de resistencias en el agua</b> .....	40
<b>2.4.1. Residuos de antibióticos</b> .....	40
<b>2.4.2. Biopelículas</b> .....	40
<b>2.4.3. Presencia de biocidas y metales pesados</b> .....	41
<b>2.4.4. Cambio climático</b> .....	41
<b>2.4.5. Microplásticos</b> .....	42
<b>2.5. Rutas de diseminación de los determinantes de resistencias en el medio acuático</b> .....	43
<b>2.5.1. Aguas residuales sin tratar</b> .....	43
<b>2.5.2. Aguas residuales tratadas</b> .....	43
<b>2.5.3. Biosólidos</b> .....	45
<b>2.5.4. Purines y deshechos de granja</b> .....	45
<b>2.5.5. Escorrentía y filtraciones</b> .....	46
<b>2.5.6. Otras rutas de dispersión</b> .....	46
<b>2.6. Riesgo para la Salud Pública derivado de la presencia de determinantes de resistencia a antibióticos en el medio acuático</b> .....	47
<b>2.7. La prevención de las resistencias a antibióticos en las aguas</b> .....	47
<b>2.7.1. Vigilancia epidemiológica de las resistencias a antibióticos bajo la perspectiva “One Health”</b> .....	48
<b>2.7.2. Evaluación de los riesgos para la salud por la presencia de determinantes de resistencia en el ambiente</b> .....	49
<b>2.7.3. Microorganismos indicadores de resistencias a antibióticos en el ambiente</b> ...50	
<b>2.7.4. El control y vigilancia de las resistencias a antibióticos en el agua</b> .....	52
<b>II. Objetivos</b> .....	53

<b>III. Material y Métodos .....</b>	<b>56</b>
<b>1. ORIGEN DE LAS MUESTRAS Y METODOLOGÍA DE LOS MUESTREOS.....</b>	<b>57</b>
1.1. Muestras de agua destinada al riego agrícola .....	57
1.1.1. Muestras procedentes de Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales .....	57
1.1.2. Muestras de aguas superficiales utilizadas para el riego .....	58
1.2. Muestras de aguas de costa .....	59
1.3. Muestras de agua continental.....	60
<b>2. ESTUDIO DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA .....</b>	<b>61</b>
2.1. Medios de cultivo y reactivos.....	61
2.2. Procesamiento de las aguas destinadas al riego .....	62
2.3. Procesamiento de las muestras de agua de costa.....	64
2.4. Procesamiento de las muestras de aguas continentales.....	67
<b>3. ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS DE LOS MICROORGANISMOS AISLADOS A PARTIR DE LAS MUESTRAS DE AGUA .....</b>	<b>67</b>
<b>4. DETECCIÓN DE GENES DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS .....</b>	<b>70</b>
4.1. Procesamiento de las muestras y aislados .....	70
4.2. Extracción del DNA .....	70
4.3. Amplificación del DNA por PCR para la detección de genes de resistencia .....	71
4.4. Electroforesis en gel de agarosa y visualización de resultados.....	72
<b>5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....</b>	<b>73</b>
<b>IV. Resultados.....</b>	<b>74</b>
<b>1. ESTUDIO DE AGUAS DESTINADAS AL RIEGO .....</b>	<b>75</b>
1.1. Calidad microbiológica .....	75
1.1.1. Aguas de EDAR.....	75
1.1.2. Aguas superficiales para riego .....	77
1.2. Detección de coliformes y <i>E. coli</i> en medios adicionados con antibióticos.....	77
1.2.1. Aguas de EDAR.....	78
1.2.1.1. EDAR 1 .....	78

1.2.1.2. EDAR 2 .....	80
1.2.1.3. EDAR 3 .....	83
1.2.1.4. Reducción de la carga microbiana tras el tratamiento terciario .....	85
1.2.2. Aguas de riego superficiales.....	86
1.3. Estudio de la sensibilidad a diferentes antibióticos de los aislados de <i>Escherichia coli</i> .....	88
1.3.1. Resistencias a antibióticos detectadas en los aislados de <i>E. coli</i> obtenidos a partir de aguas de EDAR.....	88
1.3.1.1. EDAR1 .....	88
1.3.1.2. EDAR 2 .....	91
1.3.1.3. EDAR 3 .....	93
1.3.1.4. Comparación entre los niveles de resistencias y multirresistencias detectados en los aislados de <i>E. coli</i> procedentes de las tres EDAR.....	96
1.3.2. Resistencias a antibióticos detectadas en los aislados de <i>E. coli</i> obtenidos a partir de aguas de riego superficiales.....	98
1.4. Detección de la presencia de ARG en muestras de agua destinada al riego .....	100
1.4.1. Estudio de la presencia de ARG en muestras de EDAR.....	101
1.4.1.1. Detección directa de ARG en las muestras de agua procedentes de EDAR .....	101
1.4.1.2. Detección de ARG en los aislados de <i>E. coli</i> procedentes de aguas de EDAR .....	103
1.4.1.3. Estudio comparativo de la presencia de ARG en las muestras de agua y los aislados de EDAR.....	104
1.4.1.4. Estudio comparativo entre las resistencias fenotípicas y la presencia de ARG en los aislados de <i>E. coli</i> procedentes de EDAR .....	105
1.4.2. Estudio de la presencia de ARG en muestras de aguas de riego superficiales .....	106
1.4.2.1. Detección directa de ARG en las muestras de agua de riego superficiales .....	106

1.4.2.2. Detección de ARG en los aislados de <i>E. coli</i> procedentes de aguas de riego superficiales.....	107
1.4.2.3. Estudio comparativo de la presencia de ARG en las muestras de agua y los aislados de aguas de riego superficiales .....	109
1.4.2.4. Estudio comparativo entre las resistencias fenotípicas y la presencia de ARG en los aislados de <i>E. coli</i> procedentes de aguas de riego superficiales.....	110
2. ESTUDIO DE AGUAS DE COSTA Y CONTINENTALES .....	111
2.1. Calidad microbiológica .....	111
2.1.1. Aguas de costa .....	111
2.1.2. Aguas continentales .....	112
2.2. Estudio de la sensibilidad a diferentes antibióticos de los aislados de <i>Escherichia coli</i> y de <i>Enterococcus</i> spp.....	113
2.2.1. Resistencias a antibióticos detectadas en los aislados de <i>E. coli</i> y <i>Enterococcus</i> spp. obtenidos a partir de aguas de costa.....	114
2.2.2. Resistencias a antibióticos detectadas en los aislados de <i>E. coli</i> y <i>Enterococcus</i> spp. obtenidos a partir de aguas continentales.....	116
2.3. Detección de la presencia de ARG en las muestras de agua de costa .....	120
2.3.1. Detección directa de ARG en las muestras de agua.....	120
2.3.2. Detección de ARG en los aislados de <i>E. coli</i> procedentes de aguas de costa .....	120
2.3.3. Estudio comparativo de la presencia de ARG en las muestras de agua y los aislados de aguas de costa .....	121
2.3.4. Detección de ARG en los aislados de <i>Enterococcus</i> spp. ....	122
2.3.5. Estudio comparativo entre las resistencias fenotípicas y la presencia de ARG en los aislados de <i>E. coli</i> y <i>Enterococcus</i> spp. procedentes de aguas de costa .....	122
V. Discusión .....	124
1. Aguas destinadas al riego agrícola .....	126
2. Aguas de costa y aguas continentales .....	144
VI. Conclusiones .....	155

<b>VII. Bibliografía.....</b>	<b>159</b>
<b>VIII. Anexos .....</b>	<b>216</b>