

## **Resumen**

La amenaza para la prevención y tratamiento de las infecciones bacterianas provocada por la resistencia a los antibióticos es cada vez mayor. Este problema va más allá de conseguir el éxito en el tratamiento de infecciones humanas, ya que nos encontramos en un ecosistema interconectado, donde las bacterias resistentes a los antibióticos y los genes de resistencia pueden influir en la salud global. Una de las herramientas más importantes para el manejo de estas resistencias es la vigilancia, de forma que la información actualizada de los patrones de resistencia local pueda orientar la elección inicial de la terapia correspondiente.

En este trabajo hemos estudiado distintos tipos de agua, a fin de obtener información integrada de la contaminación y los patrones locales de resistencia a antibióticos de bacterias indicadoras, con el objetivo de determinar el potencial de estos sistemas acuáticos para actuar como medios de dispersión de determinantes de resistencias a antibióticos en el ambiente, dentro de la perspectiva "One Health".

Nuestro objetivo era obtener información acerca del nivel de contaminación por bacterias resistentes a antibióticos (ARB) y la presencia de genes determinantes de resistencias (ARG) en distintos tipos de aguas ambientales, evaluando el origen de esta resistencia, relacionando los patrones de resistencia presentes, valorando los posibles riesgos para la población y proponiendo medidas para combatir el problema. Acotamos geográficamente nuestro estudio al área metropolitana de Valencia y otros puntos de la Comunidad Valenciana, analizando muestras provenientes de distintas fuentes como estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR), aguas de riego, aguas marinas y aguas continentales.

En las muestras de agua recogidas en diversas localizaciones realizamos recuentos bacterianos selectivos de bacterias consideradas indicadores de contaminación fecal, tales como los coliformes totales, *Escherichia coli* y *Enterococcus* spp. (enterococos), seleccionados dependiendo del origen de la muestra, con el fin de conocer su calidad higiénico-sanitaria, y valoramos el nivel de resistencias de estos microorganismos frente a distintos antibióticos de uso frecuente, mediante recuentos en placas con medio selectivo a las que se había adicionado concentraciones estándar de los mismos. Empleando *E. coli* como microorganismo monitor de la resistencia en todos los tipos de agua, junto con *Enterococcus* spp. en el caso de aguas continentales y marinas, seleccionamos y aislamos un número significativo de cepas, valorando su concentración mínima inhibitoria (CMI) frente a antibióticos de uso frecuente para el tratamiento de infecciones en humanos. Por último, verificamos mediante PCR la presencia o

ausencia de diferentes genes de resistencia, tanto en el medio acuático como en las cepas seleccionadas.

Los resultados obtenidos reflejan que la calidad higiénico-sanitaria de las aguas procedentes de los efluentes de dos EDAR, aguas de mar y aguas continentales, están dentro de los estándares de calidad establecidos por la normativa española. No ocurre lo mismo con las aguas de riego y las aguas de una de las EDAR, las cuales estaban muy por encima de esos límites. Mediante recuento en medios selectivos adicionados con distintos antibióticos, se observó que un elevado porcentaje de las cepas provenientes de EDAR y aguas de riego eran resistentes a ampicilina, eritromicina, y sulfametoxazol, siendo la resistencia a la ampicilina la más prevalente. Estos resultados fueron confirmados por la CMI en los aislados de *E. coli*, los cuales mostraron un patrón global de resistencia independientemente del origen de la muestra, siendo la resistencia a ampicilina la más prevalente, seguida de tetraciclina y sulfametoxazol, con un porcentaje muy alto de cepas multirresistentes, especialmente en EDAR y aguas de riego. La mayoría de las cepas presentaron resistencia a los antibióticos betalactámicos, sulfonamidas y tetraciclinas, siendo los perfiles predominantes de multirresistencia similares en todos los tipos de agua.

En el caso de *Enterococcus* spp., el número de cepas resistentes y multirresistentes fue escaso, siendo las resistencias a la eritromicina y tetraciclina las más prevalentes.

La determinación por PCR de la presencia de diversos genes de resistencia confirmó que su dispersión en el medio acuático es muy elevada, encontrándose casi todos ellos en todas las muestras de agua, aunque en un menor porcentaje en el agua de mar. Se pudo determinar la existencia de un patrón genómico homogéneo de resistencias en las cepas de *E. coli* en esta área geográfica. La presencia del gen *bla*TEM en prácticamente todas las cepas se correlacionaba con la resistencia a betalactámicos detectadas fenotípicamente en las cepas seleccionadas. Los genes *sull*, *tetW* y *qnrS* fueron detectados en menor proporción, y su presencia presentaba menos correlación con las resistencias a las correspondientes familias de antibióticos de las cepas, lo que podría atribuirse a la presencia en su genoma de otros genes no estudiados en este trabajo.

La elevada prevalencia de determinantes de resistencia a los antibióticos encontrados en los distintos tipos de agua supone un riesgo elevado de transferencia horizontal de genes a otras bacterias, y contribuye de forma determinante a su llegada al ser humano. Aunque en la actualidad la Unión Europea no incluye una regulación específica al respecto para el agua, consideramos que se deberían establecer puntos críticos de vigilancia en todos los hábitats influenciados, realizando un seguimiento periódico, genotípico y fenotípico, de las resistencias

bacterianas, y estableciendo programas de colaboración con los organismos e instituciones implicados, a fin de correlacionar los datos obtenidos.