

Bacterias multirresistentes en aguas de riego del río Chibunga, Chimborazo, Ecuador



Multiresistant bacteria in irrigation waters of the Chibunga River, Chimborazo, Ecuador

Guillén-Ferraro, Morella Lucía; Cordovez-Martínez, María del Carmen; González-Romero, Ana Carolina; Medina-Ramírez, Gerardo Emilio; Mur-Caicedo, Llibran; Marcillo-Valencia, Karen Gabriela

Morella Lucía Guillén-Ferraro

mlguillen@unach.edu.ec

Universidad Nacional de Chimborazo. Riobamba, Ecuador

María del Carmen Cordovez-Martínez

mcordovez@unach.edu.ec

Universidad Nacional de Chimborazo. Riobamba, Ecuador

Ana Carolina González-Romero

ana.gonzalez@unach.edu.ec

Universidad Nacional de Chimborazo. Riobamba, Ecuador

Gerardo Emilio Medina-Ramírez

ua.gerardomr59@uniandes.edu.ec

Universidad Regional Autónoma de Los Andes. Ambato, Ecuador

Llibran Mur-Caicedo

mllibran@outlook.com

Hospital General Marco Vinicio Iza. Lago Agrio, Ecuador

Karen Gabriela Marcillo-Valencia

karengaby@live.com

Laboratorio de Diagnóstico Clínico Alianza. Lago Agrio, Ecuador

FIGEMPA: Investigación y Desarrollo

Universidad Central del Ecuador, Ecuador

ISSN: 1390-7042

ISSN-e: 2602-8484

Periodicidad: Semestral

vol. 17, núm. 1, 2024

revista.figempa@uce.edu.ec

Recepción: 06 Noviembre 2023

Aprobación: 26 Enero 2024

URL: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/624/6244781007/>

Resumen: El bienestar y desarrollo de los seres vivos depende de la calidad sanitaria y química del agua disponible. En los últimos años se ha venido observando la importancia del ambiente en la diseminación de bacterias resistentes y multirresistentes a los antibióticos, situación que ha colocado la problemática de la resistencia en un plano más amplio y que se está estudiando desde la perspectiva “One Health”. En este sentido, el objetivo del presente trabajo fue determinar la presencia de bacterias multirresistentes a los antibióticos en muestras de agua de riego provenientes del río Chibunga. Se recolectaron 14 muestras de agua de un volumen de 100 mL cada una, en envases estériles y de manera aséptica, las cuales fueron conservadas bajo refrigeración hasta su análisis en el laboratorio. Cada muestra fue sembrada por el método de siembra en superficie en los agares cistina electrolito deficiente, MacConkey, *Salmonella-Shigella*, tiosulfato citrato bilis sacarosa y agar sangre, incubándose en todos los casos a una temperatura de 37 °C durante un tiempo máximo de 48 horas. La identificación de las colonias bacterianas se realizó mediante pruebas fisiológicas y bioquímicas de acuerdo con los esquemas de identificación indicados por MacFaddin. El perfil de susceptibilidad a los antibióticos de las colonias identificadas se realizó por el método de difusión en disco de Kirby Bauer. Se lograron identificar 2 especies de bacterias multirresistentes, entre ellas, cepas de *Morganella morganii* y *Plesiomonas shigelloides* resistentes a antibióticos de uso clínico como ceftazidima, aztreonam, ciprofloxacino, ácido nalidíxico y trimetoprim-sulfametoxazol. Los resultados muestran que las aguas del río Chibunga albergan bacterias con multirresistencia a los antimicrobianos, representando un riesgo de contaminación de los productos agrícolas cosechados en sus inmediaciones, así como para las personas que utilizan estas aguas.

Palabras clave: agua de riego, río chibunga, resistencia antimicrobiana, multirresistencia a los antibióticos.

Abstract: *The development of living beings depends on the health and chemical quality of the available water. In recent years, the importance of the environment in the spread of resistant and multi-resistant bacteria to antibiotics has been observed, a situation that has placed the problem of antibiotic resistance on*

DOI: <https://doi.org/10.29166/revfig.v17i1.5793>Autor de correspondencia: mlguillen@unach.edu.ec

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional.

Cómo citar: Guillén-Ferraro, M. L., Cordovez-Martínez, M. C., González-Romero, A. C., Medina-Ramírez, G. E., Mur-Caicedo, L., & Marcillo-Valencia, K. G. (2024). Bacterias multirresistentes en aguas de riego del río Chibunga, Chimborazo, Ecuador. *FIGEMPA: Investigación y Desarrollo*, 17(1), 16-25. <https://doi.org/10.29166/revfig.v17i1.5793>

*a broader level and which is being studied from the perspective “One Health”. The objective of this work was to determine the presence of multi-resistant bacteria to antibiotics in irrigation water samples from the Chibunga river. Fourteen water samples of 100 mL each were collected in sterile containers and aseptically, were kept under refrigeration until analysis in the laboratory. Each sample was seeded by the surface seeding method on blood, cystine electrolyte deficient, MacConkey, Salmonella-Shigella and thiosulfate citrate bile sucrose agars, incubating in all cases at a temperature of 37 °C for a maximum time of 48 hours. The identification of bacterial colonies was carried out through physiological and biochemical tests according to the identification schemes indicated by MacFaddin. The resistance/sensitivity to antibiotics of the identified colonies was carried out by the disk diffusion method of Kirby Bauer. Two species of multi-resistant bacteria were identified, including strains of *Morganella morganii* and *Plesiomonas shigelloides* resistant to antibiotics of clinical use such as ceftazidime, aztreonam, ciprofloxacin, nalidixic acid and trimethoprim-sulfamethoxazole. The results show that the waters of Chibunga river harbor bacteria with multi-resistance to antimicrobials, representing a contamination risk of agricultural products harvested in its vicinity, as well as for the people who use these waters.*

Keywords: irrigation water, chibunga river, antimicrobial resistance, multi-resistance to antibiotics.

INTRODUCCIÓN

El acceso a suministros de agua segura y tratada son necesarios para mantener la salud pública, de igual modo, este recurso es fundamental para conservar los ecosistemas saludables, que a su vez proporcionan bienes y servicios ambientales para las comunidades (UNESCO, 2012; Irannezhad *et al.*, 2022).

En el mundo, la contaminación de los recursos hídricos debido a la actividad humana afecta la seguridad alimentaria y la sostenibilidad de la biosfera. En ocasiones, las aguas residuales urbanas drenan directamente a los lagos, mares y ríos, lo que contribuye a la degradación de los ecosistemas acuáticos (Poma, Mamani y Iñiguez, 2016; Zhu *et al.*, 2022).

Las bacterias patógenas asociadas a cuadros diarreicos se transmiten a menudo por el agua y/o alimentos contaminados, se ha demostrado que estos agentes infecciosos persisten durante largos períodos de tiempo en depósitos de agua naturales y sedimentos, también pueden adherirse a productos frescos, especialmente a la lechuga y otros vegetales (Alemu, Mama y Siraj, 2018; Dean y Mitchell, 2022; Gurtler y Gibson, 2022).

Los ecosistemas acuáticos, en especial aquellos expuestos a las actividades antropogénicas como los ríos, además de ser un vehículo importante para la propagación de los microorganismos patógenos asociados a enfermedades infecciosas, pueden servir de reservorio de bacterias que portan genes de resistencias a diversos antibióticos y propiciar la transferencia horizontal de estos genes con otras bacterias sensibles a los mismos, denominándose a este fenómeno como resistomas ambientales (Baquero, Martínez y Canton, 2008; Amos *et al.*, 2014; Calero-Cáceres y Muniesa, 2016; Grenni, 2022; Li y Zhang, 2022; Hanna, Tamhankar y Lundborg, 2023; Kenneth *et al.*, 2023).

NOTAS DE AUTOR

mlguillen@unach.edu.ec

En la actualidad, uno de los problemas más graves a los que se enfrenta la humanidad es la creciente resistencia y multiresistencia a los antimicrobianos por parte de las bacterias patógenas, situación que nos está afectando, causando muchas muertes y que además representa un posible riesgo de una próxima pandemia por esta causa (De Kraker, Stewardson y Harbarth, 2016; Cohen, 2022; Murray Christopher *et al.*, 2022).

La presencia de bacterias resistentes y multiresistentes a los antibióticos de uso humano y veterinario en ambientes acuáticos es un hecho que se ha venido observando y estudiando en los últimos años y que ha llevado a considerar que para poder combatir y minimizar el impacto que pueda tener en la salud pública la resistencia a los antibióticos, se debe considerar y aplicar otro enfoque en los estudios de control y vigilancia epidemiológica, donde el ambiente sea considerado como otro elemento de la salud por sus múltiples implicaciones, este razonamiento ha dado origen a lo que se conoce como perspectiva o aproximación de "Una Salud" o "One Health" (Hernando-Amado *et al.*, 2019; WHO, 2022; Elnaiem *et al.*, 2023).

En Ecuador son pocas las investigaciones que se han realizado para estudiar las bacterias resistentes y multiresistentes en ecosistemas acuáticos, de manera de poder analizar y entender la influencia y el papel del ambiente en el problema de la creciente multiresistencia a los antibióticos (Andueza *et al.*, 2022).

En este sentido, se planteó el presente trabajo de investigación para determinar la presencia de bacterias patógenas multiresistentes a los antibióticos en el río Chibunga situado al noroeste de la Provincia de Chimborazo-Ecuador, cuyas aguas se utilizan en la agricultura de la zona.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron siete estaciones de muestreo en las aguas de riego del Río Chibunga, tomando en cuenta la altitud, temperatura y pH, estos fueron:

1. Santa Martha cruce del río a 100 metros de la Y, bajo el puente.
2. Shobol-Llinllin canales de riego a lado de la carretera estatal (100 metros del puente).
3. San Juan canal de riego "Guabug Nunkata" a 250 metros de la Y.
4. Calpi canal de riego a 100 metros del cementerio.
5. Ricpamba canal de riego que atraviesa el puente a 200 metros de la entrada.
6. Parque lineal Chibunga cruce del río bajo el puente, frente al parqueadero y
7. San Luis cruce del río a 50 metros del puente, frente a fábrica de lácteos.

En cada uno de los sitios seleccionados se recolectaron muestras de agua durante 2 campañas de muestreos. El volumen de cada una de las muestras fue de 100 mL de agua, y las muestras se tomaron por duplicado en frascos estériles, que fueron transportados al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad Nacional de Chimborazo de Riobamba, Ecuador.

Para el aislamiento de las colonias bacterianas presentes en el agua de río se realizaron diluciones seriadas de cada una de las muestras en solución fisiológica estéril (10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-5} y 10^{-6}). De cada una de las muestras de agua se sembró por la técnica de siembra en superficie un mililitro de la muestra sin diluir y de cada una de las diluciones realizadas. El aislamiento se realizó utilizando medios de cultivo como cistina electrolito deficiente (CLED), agar sangre, MacConkey, *Salmonella-Shigella* (SS) y tiosulfato citrato bilis sacarosa (TCBS), incubándose en todos los casos 37 °C durante 24 a 48 horas.

La identificación de género y especie de las colonias bacterianas aisladas y purificadas se realizó mediante pruebas bioquímicas, fisiológicas y tintoriales, tales como la coloración de Gram, prueba de la bilis esculina, catalasa, crecimiento en presencia de NaCl, citrato, observación de hemólisis en agar sangre, indol-motilidad, Kligler, lisina, oxidasa y utilización de azúcares, de acuerdo con los esquemas de identificación bacteriana indicados por MacFaddin (2003).

Los patrones de resistencia y susceptibilidad a los antibióticos se realizaron por el método de difusión en discos de Kirby y Bauer (1966). Los antibióticos se seleccionaron de acuerdo con lo indicado por el manual de la CLSI (2022). Los discos de antibióticos utilizados fueron: amoxicilina/ácido clavulánico (AMC), ceftazidima (CAZ), aztreonam (ATM), ciprofloxacino (CIP), ácido nalidíxico (NA), gentamicina (GE), imipenem (IPM), Trimetoprim-Sulfametoxazol (SXT), colistina (CT), tetraciclina (TE), cloranfenicol (C), teicoplanina (TEC), vancomicina (VA), penicilina (P) y gentamicina (CN). Se utilizaron como microorganismos controles, la cepa ATCC 25922 de *Escherichia coli* y la cepa ATCC 25923 de *Staphylococcus aureus*.

Los resultados de los antibiogramas se interpretaron de acuerdo con el halo de inhibición, considerándose como resistente o sensible de acuerdo con lo señalado en el manual de la CLSI (2022).

RESULTADOS

Se estudiaron las muestras de agua de riego del río Chibunga, el punto más alto de toma de muestra se encontraba a 3400 msnm, mientras que el más bajo estaba a 2680 msnm, la temperatura media del agua del río fue de 13,3 °C y la del ambiente fue de 17,7 °C.

Se aislaron e identificaron un total de 51 cepas bacterianas, las cuales se pudieron identificar a nivel de género y especies, pero sobresalieron 4 cepas de *Morganella morganii* y 2 de *Plesiomonas shigelloides* por presentar cierta peculiaridad (Ver tabla 1).

Las cepas de *Morganella morganii* resultaron sensibles a los antibióticos aztreonam, ceftazidima, ciprofloxacino e imipenem, observándose multirresistencia a los antibióticos ácido nalidíxico (quinolona), amoxicilina/ácido clavulánico (betalactámicos), gentamicina (aminoglucósidos) y trimetoprim/sulfametoxazol (sulfonamidas) (Ver tabla 1).

En el caso de las cepas de *Plesiomonas shigelloides* todas resultaron sensibles a los antibióticos gentamicina, amoxicilina/ácido clavulánico e imipenem y resistente a antibióticos de uso clínico tales como ceftazidima (cefalosporina de tercera generación), aztreonam (monobactámicos), ciprofloxacina, ácido nalidíxico (quinolona) y trimetoprim-sulfametoxazol (sulfonamidas) (Ver tabla 1).

TABLA 1
Resistencia y susceptibilidad de cepas bacterianas aisladas en muestras de aguas del río Chibunga

Microorganismo	Número de cepas	SXT	CAZ	AMC	ATM	W	CIP	GE	IPM
<i>Morganella morganii</i>	4	R	S	R	S	R	S	R	S
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	2	R	R	S	R	R	R	S	S

SXT: trimetoprim-sulfametoxazole; CAZ: ceftazidima; AMC: amoxicilina/clavulánico; ATM: aztreonam; W: ácido nalidíxico; CIP: ciprofloxacino; GE: gentamicina; IPM: imipenem.

DISCUSIÓN

La contaminación con microorganismos patógenos de las aguas superficiales, entre ellas los ríos, se considera un problema importante de salud pública, dado a la calidad sanitaria y su potencial para transmitir enfermedades infecciosas. Algunas de las bacterias presentes en el medio acuático son patógenos oportunistas y tienen la capacidad de infectar a las personas con problemas en su sistema inmunitario o a personas en los extremos de la vida, es decir, niños y ancianos (Forde *et al.*, 2019; Jurado e Yzarra, 2021).

Se sabe que las principales actividades que favorecen la contaminación de las aguas son las relacionadas con el sector agropecuario, como la cría de animales y los diferentes tipos cultivos, así como la disposición inadecuada de aguas residuales que afectan la calidad microbiológica de las fuentes de agua (Ríos-Tobón, Agudelo-Cadavid y Gutiérrez-Builes, 2017).

En Ecuador, se encuentra el río Chibunga situado al noroeste de la Provincia de Chimborazo, se origina en las laderas del volcán Chimborazo, su cauce representa uno de los recursos hídricos de mayor importancia en el desarrollo de la región, pues es utilizado para el riego de cultivos. A pesar de ello, es uno de los más contaminados del país pues en su curso se vierten aguas servidas (MAE, 2014).

Estudios previos han señalado la contaminación microbiológica del río Chibunga con coliformes fecales, los cuales sobrepasan los valores máximos permisibles en la normativa nacional y se ha señalado que dicha contaminación puede ser una consecuencia de las actividades agropecuarias que se realizan en las zonas aledañas al río, además de las descargas de aguas negras y grises de las comunidades asentadas en sus márgenes (Salgado, 2018; Veloz y Carbonel, 2018).

En la presente investigación se pudo aislar e identificar cepas de las especies bacterianas *Morganella morganii* y *Plesiomonas shigelloides* provenientes del agua del río Chibunga (Ver tabla 1). Las mismas son especies bacterianas que en los últimos años se les ha considerado como patógenos emergentes, por sus mecanismos de patogenicidad y sus resistencias y multirresistencia a los antibióticos (Liu *et al.*, 2016; Schuetz, 2019; Bandy, 2020).

Morganella morganii es una bacteria entérica Gram negativa, bacilo anaeróbico facultativo móvil que no fermenta la lactosa y que comparte con los miembros del género *Proteus*, la capacidad de producción de ureasa y la presencia de fenilalanina desaminasa. Se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza, tal como en el medio ambiente y el tracto intestinal de humanos, mamíferos y reptiles como parte de la microbiota normal (O'Hara, Brenner y Miller, 2000).

A pesar de su importancia actual y de su evolución como agente patógeno en infecciones en humanos, son escasos los estudios sobre la epidemiología y patogenicidad de *Morganella morganii* (Laupland *et al.*, 2022), sin embargo, destaca la presencia de cepas resistentes y multirresistentes a varios antibióticos (Aguiar, 2021; Zaric *et al.*, 2021).

De igual forma, fue posible aislar e identificar cepas de *Plesiomonas shigelloides*, que pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. Es un bacilo Gram negativo, mesófilo cuya temperatura óptima de crecimiento para la mayoría de las cepas está entre 35 °C y 39 °C. Se encuentra en agua dulce y estuarios en zonas con temperaturas superiores a 8 °C. Además de los humanos, puede aislarse de animales tales como anfibios, peces, aves y mamíferos (Levin, 2008; Chen *et al.*, 2013; Cortés-Sánchez *et al.*, 2021).

Plesiomonas shigelloides se ha encontrado asociada a infecciones emergentes humanas transmitidas por el agua y los alimentos, siendo la afección más común, la gastroenteritis (Wong *et al.*, 2000; Schuetz, 2019). En la actualidad la mayoría de las investigaciones consideran que es un enteropatógeno establecido, aunque también se ha demostrado que el microorganismo causa bacteriemia, sepsis, meningitis, neumonía, osteomielitis, queratitis y otras enfermedades no diarreicas, además se ha observado la existencia de cepas resistentes y multirresistencia a varios antibióticos (Chen *et al.*, 2013; Janda, Abbott y McIver, 2016; Martins *et al.*, 2019; Deng *et al.*, 2022).

Los resultados obtenidos en este trabajo, respecto a la presencia de cepas de *Morganella morganii* y de *Plesiomonas shigelloides*, son similares a los señalados para aguas de ríos en varias partes del mundo (Aldová *et al.*, 1999; González-Rey *et al.*, 2001; Shin *et al.*, 2009; Yamaki *et al.*, 2014; Kim *et al.*, 2015; Janda *et al.*, 2016; Adesiyun *et al.*, 2019; Ferheen, *et al.*, 2023) y su presencia puede ser consecuencia de la contaminación por actividades antropogénicas, entre ellas la ganadería y la agricultura, actividades que se realizan en las zonas cercanas al río Chibunga (Salgado, 2018; Veloz y Carbonel, 2018).

Otro de los problemas que se abordó en la investigación fue la presencia de multirresistencia en las bacterias presentes en el agua del río Chibunga. El surgimiento de resistencia a múltiples agentes antimicrobianos en

bacterias patógenas se ha convertido en una amenaza importante para la salud pública, ya que hay menos, o incluso a veces ningún antibiótico efectivo disponible, disminuyendo las posibilidades de éxito en la resolución clínica e incrementando los costos del tratamiento, la morbilidad y la mortalidad. El problema del incremento de la resistencia a los antimicrobianos es aún más grave cuando se considera el número muy limitado de nuevos fármacos antibacterianos que están en desarrollo (Cruz, 2015; De Kraker *et al.*, 2016; Cohen, 2022; Elnaiem *et al.*, 2023).

La resistencia a antimicrobianos está muy extendida tanto en los ambientes clínicos como ambientales, permitiendo la aparición de reservorios que podrían difundirse a través de la transferencia horizontal de genes entre diferentes bacterias (Durão, Balbontín y Gordo, 2018).

El proceso mediante el cual una bacteria es capaz de desarrollar un fenotipo de multirresistencia es complejo y la adquisición puede originarse por mecanismos de mutación en genes cromosómicos o bien por adquisición de genes localizados en estructuras genéticas móviles tales como los plásmidos, transposones e integrones. Este último mecanismo constituye una vía eficaz para la diseminación de resistencia (Magiorakos *et al.*, 2012; Dimopoulos, Kollef y Cohen, 2016). Una bacteria se considera multirresistente a antibióticos cuando no es sensible al menos a un antibiótico de 3 o más familias antibióticas, es decir, presenta resistencia a múltiples antibióticos clases o subclases (Magiorakos *et al.*, 2012).

El hallazgo de las cepas de *Morganella morganii* y *Plesiomonas shigelloides* multirresistentes a diferentes antibióticos en el agua del río Chibunga puede estar relacionadas con su presencia en las descargas fecales del ganado y el uso de estiércol animal y de aves de corral que se encuentran en los alrededores del río, así como residuos generados por las comunidades aledañas al cauce del río, situación similar a lo observado en otras partes del mundo (Jiao *et al.*, 2017; Pornsukarom y Thakur, 2017; Fang *et al.*, 2018; Adesiyan *et al.*, 2019)

En una investigación realizada por López en el año 2019, sobre productos agrícolas cultivados con aguas del río Chanchán, ubicado en Chimborazo- Ecuador, se encontraron cepas de *Plesiomonas shigelloides*, sin embargo, las cepas aisladas mostraron una buena sensibilidad a los antimicrobianos ensayados (López Cuaran, 2019), resultados diferentes a los obtenidos en el presente trabajo.

CONCLUSIONES

La presencia de bacterias de *Morganella morganii* como *Plesiomonas shigelloides* en el río Chibunga podría traer consigo serios problemas de salud a las comunidades cercanas al utilizar el agua para consumo doméstico o regadío de productos agrícolas, que al ser ingeridos no sólo pueden producir infecciones intestinales sino también extraintestinales, sobre todo en personas que presenten disminución de los mecanismos de defensa del organismo, las cuales serían de difícil tratamiento médico, en especial cuando están presentes cepas con patrones de multirresistencia a los antimicrobianos como éstas.

Es importante mencionar que la presencia de cepas multirresistentes a diferentes antibióticos de la especie de *Morganella morganii*, en ríos, sería el primer reporte de este tipo en Ecuador, y evidencian la necesidad de realizar estudios de monitoreo ambiental, de manera de investigar y gestionar la problemática de la resistencia a los antibióticos.

La investigación ha permitido evidenciar la presencia de bacterias patógenas como *Morganella morganii* y *Plesiomonas shigelloides* causantes de distintos tipos de infecciones en humanos y en animales en un cuerpo de agua importante para la agricultura de la provincia de Chimborazo, así como la presencia de cepas bacterianas con multirresistencia a una variedad de antimicrobianos principalmente a los aminoglucósidos, cefalosporina de tercera generación, monobactámicos, quinolonas y sulfonamidas los cuales son utilizados en las áreas clínicas y veterinaria. En este sentido, el trabajo indica la importancia de los ecosistemas acuáticos como reservorios de bacterias y sus genes de resistencias a los antibióticos, lo cual resalta la necesidad de realizar estudios microbiológicos ambientales para reducir los riesgos sanitarios.

RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar investigaciones similares utilizando además de las pruebas microbiológicas, las moleculares que permitirían la identificación y detección de microorganismos, su tipificación, así como estudiar los genes involucrados en la aparición de resistencia a antibióticos.

Este trabajo tiene algunas limitaciones, en primer lugar, debe ampliarse el número de muestras de agua, así como los sitios de toma y en segundo lugar, se debe llevar a cabo la investigación en épocas diferentes, es decir, durante el período de lluvias y de sequía para conocer su impacto en la aparición o no de bacterias infecciosas para el humano.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimiento al Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Chimborazo (UNACH), Facultad de Ciencias de la Salud, Riobamba, Ecuador, donde se procesaron y analizaron las muestras.

REFERENCIAS

- Adesiyan, I. M., Bisi-Johnson, M. A., Ogunfowokan, A. O. and Okoh, A. I. (2019) Incidence and antimicrobial susceptibility fingerprints of *Plesiomonas shigelloides* isolates in water samples collected from some freshwater resources in Southwest Nigeria. *Science of the Total Environment*, 665, pp. 632-640. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.062>
- Aguiar, H. G. M. V. (2021) Doenças causadas por enterobacteriaceae *Morganella morganii* e a resistência aos fármacos beta lactâmicos. Diseases caused by Enterobacteriaceae *Morganella morganii* and resistance to beta lactamic drugs. *Brazilian Journal of Development*, 7(12), pp. 112426-112439.
- Aldová, E., Melter, O., Chyle, P., Slosarek, M. and Kodym, P. (1999) *Plesiomonas shigelloides* in water and fish. *Cent. Eur. J. Public Health*, 7 (4), pp. 172-175.
- Alemu, G., Mama, G. and Siraj, M. (2018) Bacterial contamination of vegetables sold in Arba Minch Town, Southern Ethiopia. *BMC Res Notes*, 11, p. 775. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3889-1>.
- Amos, G. C. A., Zhang, L., Hawkey, P. M., Gaze, W. H. and Wellington, E. M. (2014) Functional metagenomic analysis reveals rivers are a reservoir for diverse antibiotic resistance genes. *Vet. Microbiol.*, 171, pp. 441-447.
- Andueza, F., González, M., Ibáza, D., Vásquez, P., Viteri, F., Villacís, L., Araque, J., Escobar-Arrieta, S., González-Romero, A.C., Medina-Ramírez, G. and Álvarez, E. (2022) Diversity and profiles of resistance to antibiotic in species of the genus *Aeromonas* isolated from the aquatic ecosystems of Ecuador. *Anales de la Real Academia de Farmacia*, 88 (4), pp. 713-720. https://analesranf.com/articulo/8804_02/
- Bandy, A. (2020) Ringing bells: *Morganella morganii* fights for recognition. *Public Health*, 182, pp. 45-50.
- Baquero, F., Martínez, J.L. and Canton, R. (2008) Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Curr Opin Biotechnol.*, 19, pp. 260-5
- Bauer, A., Kirby, W., Sherry, J. and Turck, M. (1966) Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol.*, 45, pp. 493-496.
- Calero-Cáceres, W. and Muniesa, M. (2016) Persistence of naturally occurring antibiotic resistance genes in the bacteria and bacteriophage fractions of wastewater. *Water Res.*, 95, pp. 11e18. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.03.006>.
- Chen, X., Chen, Y., Yang, Q., Kong, H., Yu, F., et al. (2013) *Plesiomonas shigelloides* Infection in Southeast China. *PLoS ONE*, 8(11), e77877. Doi: 10.1371/journal.pone.0077877.
- CLSI (2022) *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing Clinical and Laboratory Standards Institute Wayne, PA*. 32 edition. USA.

- Cohen, T. (2022) The Next Pandemic: A Pragmatic and Ethical Discussion About the Looming Threat of Antibiotic Resistance. *Voices in Bioethics*, 8. <https://doi.org/10.52214/vib.v8i.9509>
- Cortés-Sánchez, A. D. J., Espinosa-Chaurand, L. D., Díaz-Ramírez, M. and Torres-Ochoa, E. (2021) *Plesiomonas*: A review on food safety, fish-borne diseases, and tilapia. *The Scientific World Journal*, 2021, 3119958. <https://doi.org/10.1155/2021/3119958>
- Cruz, E.M. (2015) Antibióticos vs. resistencia bacteriana. *Revista Electrónica Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta*, 40 (2), pp. 1-4
- Dean, K. and Mitchell, J. (2022) Identifying water quality and environmental factors that influence indicator and pathogen decay in natural surface waters. *Water Research*, 211, 118051.
- De Kraker, M.E.A., Stewardson, A.J. and Harbarth, S. (2016) Will 10 million people die a year due to antimicrobial resistance by 2050? *PLoS Med.*, 13, pp. e1002184.
- Deng, D., Mu, Z., Lv, X., Jiang, X., Zhou, J., Guo, H. and Wei, Q. (2022) Pathogenicity of *Plesiomonas shigelloides* and *Citrobacter freundii* isolated from the endangered Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*). *Microbial Pathogenesis*, 173, pp. 105818.
- Dimopoulos, G., Kollef, M. H. and Cohen, J. (2016) In 2035, will all bacteria be multiresistant? Yes. *Intensive care medicine*, 42, pp. 2014-2016.
- Durão, P., Balbontín, R. and Gordo, I. (2018) Evolutionary Mechanisms Shaping the Maintenance of Antibiotic Resistance. *Trends Microbiol.*, 26(8), pp. 677-691.
- Elnaiem, A., Mohamed-Ahmed, O., Zumla, A., Mecskey, J., Charron, N., Abakar, M. F. and Dar, O. (2023) Global and regional governance of One Health and implications for global health security. *The Lancet*, 401(10377), pp. 688-704.
- Fang, H., Han, L., Zhang, H., Long, Z., Cai, L. and Yu, Y. (2018) Dissemination of antibiotic resistance genes and human pathogenic bacteria from a pig feedlot to the surrounding stream and agricultural soils. *J. Hazard Mater.*, 357, pp. 53e62. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.05.066>.
- Ferheen, I., Spurio, R., Mancini, L. and Marcheggiani, S. (2023) Detection of *Morganella morganii* bound to a plastic substrate in surface water. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 32, pp. 104-107.
- Forde, M., Izurieta, R., Ormezi, B., Arellano, M. and Mitchell, K. (2019) Agua y salud. En: *Calidad del Agua en las Américas, Riesgos y oportunidades*, pp. 29-38. UNESCO-PHI-IANAS-IAP-CODIA. Ciudad de México. México
- González-Rey, C., Eriksson, L., Ciznar, I. and Krovacek, K. (2001) *P25- Unexpected isolation of the "tropical" bacterial pathogen -Plesiomonas shigelloides- from lake water above the Polar Circle in Sweden*. In: 7° Symposium on *Aeromonas and Plesiomonas*.
- Grenni, P. (2022) Antimicrobial resistance in rivers: a review of the genes detected and new challenges. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 41(3), pp. 687-714.
- Gurtler, J. B. and Gibson, K. E. (2022) Irrigation water and contamination of fresh produce with bacterial foodborne pathogens. *Current Opinion in Food Science*, 100889.
- Hanna, N., Tamhankar, A. J. and Lundborg, C. S. (2023) Antibiotic concentrations and antibiotic resistance in aquatic environments of the WHO Western Pacific and South-East Asia regions: a systematic review and probabilistic environmental hazard assessment. *The Lancet Planetary Health*, 7(1), pp. e45-e54.
- Hernando-Amado, S., Coque, T. M., Baquero, F. and Martínez, J. L. (2019) Defining and combating antibiotic resistance from One Health and Global Health perspectives. *Nature microbiology*, 4(9), pp. 1432-1442.
- Irannezhad, M., Ahmadi, B., Liu, J., Chen, D. and Matthews, J. H. (2022) Global water security: A shining star in the dark sky of achieving the sustainable development goals. *Sustainable Horizons*, 1, pp. 100005.
- Janda, J.M., Abbott, S.L., and McIver, C.J. (2016) *Plesiomonas shigelloides* revisited. *Clin Microbiol Rev.*, 29, pp. 349–374. doi:10.1128/CMR.00103-15.
- Jiao, Y.N., Chen, H., Gao, R.X., Zhu, Y.G. and Rensing, C. (2017) Organic compounds stimulate horizontal transfer of antibiotic resistance genes in mixed wastewater treatment systems. *Chemosphere*, 184, pp. 53e61. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.05.149

- Jurado, C. D. and Yzarra, L. H. (2021) La calidad del agua potable y su influencia en la salud humana. *GnosisWisdom*, 1(3), pp. 11-20.
- Kenneth, M. J., Koner, S., Hsu, G. J., Chen, J. S. and Hsu, B. M. (2023) A review on the effects of discharging conventionally treated livestock waste to the environmental resistome. *Environmental Pollution*, 122643.
- Kim, K. T., Lee, S. H. and Kwak, D. (2015) Prevalence, biochemical characteristics, and antibiotic susceptibility of Aeromonads, Vibrios, and Plesiomonads isolated from different sources at a zoo. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 46(2), pp. 298-305.
- Laupland, K. B., Paterson, D. L., Edwards, F., Stewart, A. G. and Harris, P. N. (2022) *Morganella morganii*, an emerging cause of bloodstream infections. *Microbiology Spectrum*, 10(3), pp. e00569-22.
- Levin, R. E. (2008) *Plesiomonas shigelloides*-An aquatic food borne pathogen: A review of its characteristics, pathogenicity, ecology, and molecular detection. *Food Biotechnology*, 22(2), pp. 189-202.
- Li, W. and Zhang, G. (2022) Detection and various environmental factors of antibiotic resistance gene horizontal transfer. *Environmental Research*, 212, 113267.
- Liu, H., Zhu, J., Hu, Q. and Rao, X. (2016) *Morganella morganii*, a non-negligent opportunistic pathogen. *International Journal of Infectious Diseases*, 50, pp. 10-17.
- López Cuarán, A.Y. (2019) *Diagnóstico bacteriológico en productos agrícolas de la cuenca del río Chanchán*. Tesis de pregrado. Universidad Nacional del Chimborazo. Riobamba. Ecuador.
- MacFaddin, J. (2003) *Pruebas Bioquímica individuales. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. 3a ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.
- Magiorakos, A.P., Srinivasan, A., Carey, R.B., Carmeli, Y., Falagas, M.E., Giske, C.G., Harbarth, S., Hindler, J.F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D.L., Rice, L.B., Stelling, J., Struelens, M.J., Vatopoulos, A., Weber, J.T. and Monnet, D.L. (2012) Multidrug-resistant, extensively drug-resistant, and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.*, 18, pp. 268-81.
- Martins, A. F. M., Pinheiro, T. L., Imperatori, A., Freire, S. M., Sá-Freire, L., Moreira, B. M. and Bonelli, R. R. (2019) *Plesiomonas shigelloides*: A notable carrier of acquired antimicrobial resistance in small aquaculture farms. *Aquaculture*, 500, pp. 514-520.
- Ministerio del Ambiente del Ecuador (2014) *MAE recolecta 2 267 kg de desechos las riberas del río Chibunga, Chimborazo*. Disponible en: <https://www.ambiente.gob.ec/mae-recolecta-2-267-kg-de-desechos-las-riberas-del-rio-chibunga-chimborazo/>. [Consultado el 28/08/2023].
- Murray Christopher, J. L., Shunji Ikuta, K., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A. and Han, C. (2022) Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, 399 (10325), pp. 629-655
- O'Hara, C. M., Brenner, F. W. and Miller, J. M. (2000) Classification, identification, and clinical significance of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. *Clinical microbiology reviews*, 13(4), pp. 534-546.
- Poma, V., Mamani, N. and Iñiguez, V. (2016) Impact of urban contamination of the La Paz River basin on thermotolerant coliform density and occurrence of multiple antibiotic resistant enteric pathogens in river water, irrigated soil, and fresh vegetables. *SpringerPlus*, 22 (5), p. 499. DOI 10.1186/s40064-016-2132-6.
- Pornsukarom, S. and Thakur, S. (2017) Horizontal dissemination of antimicrobial resistance determinants in multiple *Salmonella* serotypes following isolation from the commercial swine operation environment after manure application. *Appl. Environ. Microbiol.*, 83 (20), pp. e01503e17. <https://doi.org/10.1128/AEM.01503-17>.
- Ríos-Tobón, S., Agudelo-Cadavid, R. M. and Gutiérrez-Builes, L.A. (2017) Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano. *Rev. Fac. Nac. Salud Pública*, 35(2), pp. 236-247.
- Salgado Erazo, C.M. (2018) *Evaluación de resistencia de bacterias a los metales pesados, en la microcuenca del río Chibunga*. Tesis de pregrado. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba. Ecuador.
- Schuetz, A. N. (2019) Emerging agents of gastroenteritis: Aeromonas, Plesiomonas, and the diarrheagenic pathotypes of Escherichia coli. *Seminars in Diagnostic Pathology*, 36 (3), pp. 187-192. <https://doi.org/10.1053/j.semdp.2019.04.012>

- Shin, S. P., Kim, J. H., Gómez, D. K., Choresca Jr, C. H., Han, J. E. and Park, S. C. (2009) Isolation and characterization of *Morganella morganii* from Asian water monitor *Varanus salvator*. *Journal of veterinary clinics*, 26(4), pp. 391-394.
- UNESCO (2012) *World Water Assessment Programme*. The United Nations world water development report 4: managing water under uncertainty and risk. United Nations Educational Scientific and Cultural Organization, Paris. France. <https://digitallibrary.un.org/record/3892696?ln=es#:~:text=The%20fourth%20edition%20of%20the,that%20a%20coordinated%20approach%20to>
- Veloz, N. and Carbonel, C. (2018) Evaluación de la calidad del agua de la microcuenca del río Chibunga-Ecuador en variaciones estacionales, periodo 2013-2017. *Rev. del Instituto de Investigación FIGMMG-UNMSM*, 21(42), pp. 13-26.
- Wong, T.Y., Tsui, H.Y., So, M. K., Lai, J.Y., Lai, S.T., Tse, C.W. and Ng, T.K. (2000) *Plesiomonas shigelloides* infection in Hong Kong: retrospective study of 167 laboratory-confirmed cases. *HKMJ*, 6(4).
- World Health Organization (WHO) (2022) *A health perspective on the role of the environment in One Health*. WHO Regional Office for Europe, Copenhagen. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/354574/WHO-EUR-O-2022-5290-45054-64214-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Yamaki, S., Omachi, T., Kawai, Y. and Yamazaki, K. (2014) Characterization of a novel *Morganella morganii* bacteriophage FSP1 isolated from river water. *FEMS microbiology letters*, 359 (2), pp. 166-172.
- Zaric, R. Z., Jankovic, S., Zaric, M., Milosavljevic, M., Stojadinovic, M. and Pejcic, A. (2021) Antimicrobial treatment of *Morganella morganii* invasive infections: Systematic review. *Indian journal of medical microbiology*, 39(4), pp. 404-412.
- Zhu, X., Wang, L., Zhang, X., He, M., Wang, D., Ren, Y. and Pan, H. (2022) Effects of different types of anthropogenic disturbances and natural wetlands on water quality and microbial communities in a typical black-odor river. *Ecological Indicators*, 136, 108613.