


# RESISTENCIA ANTIBIÓTICA EN BIOAEROSOLES ASOCIADOS A LAGUNAS DE OXIDACIÓN

## RESISTANCE IN BIOAEROSOLS ASSOCIATED WITH OXIDATION PONDS

Luis Basurto<sup>1</sup>, Joy Macias<sup>1</sup>, Carlos Banchón<sup>1,\*</sup> 

<sup>1</sup>Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Félix López”. Carrera de Ingeniería Ambiental. Ecuador.

\*Autor correspondencia: [carlos.banchon@espam.edu.ec](mailto:carlos.banchon@espam.edu.ec)

### Resumen

Se evaluó la relación entre los bioaerosoles generados en la laguna de oxidación de Calceta y la presencia de bacterias resistentes a altas concentraciones de azitromicina y tetraciclina. Se recolectaron muestras de bioaerosoles dentro y fuera de la laguna, hasta una distancia de 0.5 km, utilizando cajas Petri con Agar Nutritivo y dosis de antibióticos de 75 y 150 mg/L. Los resultados mostraron que los valores más altos de UFC se registraron en los testigos, mientras que los tratamientos con antibióticos redujeron significativamente el conteo bacteriano de manera dosis-dependiente, con las dosis altas (150 mg/L) siendo más efectivas al reducir las UFC a solo 2 colonias. Además, los bioaerosoles muestreados a mayor distancia de la fuente de agua residual y expuestos a antibióticos presentaron una disminución notable en la presencia de bacterias. Las dosis altas (150 mg/L) fueron más efectivas, reduciendo los conteos a niveles casi nulos, mientras que las dosis bajas (75 mg/L) resultaron menos eficaces. El análisis microbiológico identificó estafilococos Gram-positivos resistentes a antibióticos, destacando la adaptabilidad de los microorganismos a altas concentraciones de estos compuestos. Los resultados subrayan la necesidad de estrategias para mitigar la contaminación por antibióticos, como el tratamiento avanzado de aguas residuales y el monitoreo continuo de bacterias resistentes. Además, se resalta la importancia de investigaciones en Ecuador, dada la escasa evaluación de bioaerosoles en lagunas de oxidación y su impacto en otros ecosistemas.

**Palabras clave:** bioaerosoles, aguas residuales, resistencia antibiótica, azitromicina, tetraciclina, lagunas de oxidación.

### Abstract

The relationship between bioaerosols generated in the Calceta oxidation pond and the presence of bacteria resistant to high concentrations of azithromycin and tetracycline was evaluated. Bioaerosol samples were collected inside and outside the pond, up to a distance of 0.5 km, using Petri dishes with Nutrient Agar and antibiotic doses of 75 and 150 mg/L. The results showed that the highest colony-forming unit (CFU) values were recorded in the controls, while antibiotic treatments significantly reduced bacterial counts in a dose-dependent manner, with the high doses (150 mg/L) being more effective in reducing CFUs to only 2 colonies. Furthermore, bioaerosols sampled further from the wastewater source and exposed to antibiotics showed a notable decrease in bacterial presence. High doses (150 mg/L) were more effective, reducing counts to almost negligible levels, while low doses (75 mg/L) were less effective. The microbiological analysis identified antibiotic-resistant Gram-positive staphylococci, highlighting the adaptability of microorganisms to high concentrations of these compounds. The results emphasize the need for strategies to mitigate antibiotic pollution, such as advanced wastewater treatment and continuous monitoring of resistant bacteria. Additionally, the importance of research in Ecuador is highlighted, given the limited assessment of bioaerosols in oxidation ponds and their impact on other ecosystems.

**Keywords:** bioaerosols, wastewater, antibiotic resistance, azithromycin, tetracycline, oxidation ponds.

Recibido: 2024-12-16 Aceptado: 2025-01-09 Publicado: 2025-03-28

## 1. Introducción

Las consecuencias ambientales y sanitarias asociadas a la gestión de aguas residuales son de gran relevancia, particularmente debido a la transmisión de enfermedades mediante bioaerosoles, los cuales consisten en partículas en suspensión de origen microbiano, vegetal o animal (Y. Chen et al., 2021; Kataki et al., 2022). La exposición a estos bioaerosoles debido a diferentes actividades antropogénicas es reconocida cada vez más por sus diversos efectos adversos en la salud humana, como el manejo del agua residual doméstica o industrial (Banchon, 2021; Lou et al., 2021). La transmisión aérea de bioaerosoles se define como la dispersión en el aire de partículas de diámetro inferior a 5  $\mu\text{m}$ , capaces de transportar virus y bacterias a distancias superiores a 1 m, prolongando su tiempo de supervivencia y potencial infeccioso debido a su estabilidad en el ambiente (Kowalski et al., 2017; Xie et al., 2021).

La exposición humana a bioaerosoles se ha asociado con una variedad de efectos adversos para la salud y enfermedades, tanto agudas como crónicas, siendo los problemas respiratorios (como rinitis, asma, bronquitis y sinusitis) los más comúnmente reportados, tanto a través de mecanismos alérgicos atópicos y no atópicos, como a través de vías no alérgicas (Douglas et al., 2018; Y. Han et al., 2020). Entre los microorganismos presentes en el aire de las zonas de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) y sus alrededores se encontraron tanto saprófitos como patógenos de los géneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Staphylococcus*, *Salmonella*, y hongos como *Alternaria*, *Cladosporium*, *Penicillium* y *Aspergillus* (Singh et al., 2021; Zieliński et al., 2021). La combinación de contaminantes y bioaerosoles en aguas residuales favorece su dispersión en el aire, exponiendo a quienes habitan cerca de PTARs, como las lagunas de oxidación, a un mayor riesgo de inhalar sustancias nocivas (Bai et al., 2022; Li et al., 2016). La ausencia de un tratamiento adecuado en estas

lagunas exacerba el problema, generando malos olores y liberando mayores cantidades de contaminantes, lo que afecta tanto la salud humana como la biodiversidad, incluyendo los ecosistemas acuáticos.

Si bien la ingesta de antibióticos es fundamental para combatir infecciones bacterianas en humanos y animales, el consumo global excesivo de estos medicamentos, que oscila entre 0,1 y 0,2 millones de toneladas anuales, está acelerando el desarrollo de resistencia bacteriana, poniendo en riesgo la eficacia de estos tratamientos a largo plazo (Ahmad et al., 2021; Anjali y Shanthakumar, 2019). La liberación de bioaerosoles desde las plantas de tratamiento de aguas residuales constituye un riesgo potencial para la salud pública, ya que pueden transportar bacterias resistentes a antibióticos y otros patógenos a largas distancias (Zhang et al., 2018). De tal forma, es problema para la salud pública, la resistencia a los antibióticos (RAM), la cual está asociada a las aguas residuales. El uso indiscriminado de antibióticos en humanos y animales, y su posterior liberación al ambiente a través de las aguas residuales, ha generado el surgimiento de bacterias resistentes a los tratamientos convencionales (Zieliński et al., 2022). La RAM es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel global, con un estimado de 33.000 muertes anuales y un costo de 1.100 millones de dólares (CDC, 2021, 2024; FAO, 2023). Estudios en granjas (como granjas avícolas, porcinas y bovinas) demuestran que los bioaerosoles, cargados con bacterias resistentes a antibióticos (ARB), pueden dispersarse a larga distancia a través de la capa límite planetaria, facilitando su transporte a regiones remotas (Gaviria-Figueroa et al., 2019).

La investigación sobre la relación entre contaminantes emergentes y sus efectos en la atmósfera es de gran relevancia, especialmente considerando las proyecciones de escasez hídrica que podrían afectar a 1,8 mil millones de personas para el año 2030, además de generar impactos negativos significativos en los ecosistemas

acuáticos (UN Water, 2022). Más aún todavía que a nivel mundial, un 80% de aguas residuales ingresan al ecosistema marino sin tratamiento ni reutilización (Goddard et al., 2020; UN Water, 2020). Entre los antibióticos de uso frecuente se encuentran la eritromicina y la tetraciclina, cuyos genes de resistencia se consideran como contaminantes emergentes, los que han sido detectados en bioaerosoles presentes en entornos hospitalarios, incluidos las habitaciones y los sistemas de drenaje (Y. Chen et al., 2021; Habibi et al., 2023).

Vivas et al., (2021) nos indican que, en Ecuador, existe una mayor presencia de bacterias en aguas residuales de hospitales y municipios ya que estos son un foco de propagación de microorganismos resistentes a antibióticos (MRA), además Macias et al. (2023), dicen que la aparición de microorganismos resistentes a antibióticos (MRA) en lo que son aguas residuales son de gran preocupación para la salud pública y el medio ambiente de Manta, ya que estos agentes se pueden esparcir fácilmente lo cual es un riesgo hasta incluso para los ecosistemas acuáticos.

Pese a que Ecuador es un país en vías de desarrollo y que carece de tratamientos o metodologías más eficientes para lo que son agentes patógenos que se encuentran en ciertas áreas laborales, Tubón et al. (2024) menciona que el Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI) es la entidad responsable que supervisa la resistencia bacteriana en el Ecuador, ya que este reporto en 2018 datos sobre la resistencia a antibióticos de diversas bacterias en donde se encontraron *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, esto en diferentes centros de salud del país.

En Ecuador, hay pocos estudios que analicen la calidad del aire en lugares con elevada actividad microbiana, como las lagunas de oxidación de aguas residuales y sus alrededores. La mayor parte de la información existente proviene de trabajos de titulación y artículos periodísticos, lo

que pone de manifiesto la falta de investigaciones científicas rigurosas que aborden su impacto en los ecosistemas.

El presente estudio tiene como objetivo evaluar la asociación entre los bioaerosoles generados en la laguna de oxidación de Calceta (Cantón Bolívar, Manabí) y la presencia de bacterias resistentes a altas concentraciones de los antibióticos azitromicina y tetraciclina.

La hipótesis del presente estudio propone que las concentraciones evaluadas de azitromicina y tetraciclina inhibirán el crecimiento bacteriano en distintos puntos de monitoreo, tomando como referencia el ingreso de agua residual a la laguna de oxidación.

## 2. Materiales y Métodos

### 2.1 Muestreo y aislamiento bacteriano

Se recolectaron muestras de bioaerosoles en forma de material particulado dentro y fuera de la laguna de oxidación con un caudal de ingreso de 173 L/s, ubicada en la parroquia Calceta, cantón Bolívar, provincia de Manabí, Ecuador. Los puntos de muestreo se clasificaron en tres categorías de distancia: menos de 0.2 km, 0.2 km y 0.5 km de la laguna (Figura 1), seleccionados con base en la dirección promedio del viento, de oeste-suroeste (OSO). Las coordenadas específicas de la laguna de oxidación son UTM 591742 E y 9907024 N (WGS84, zona 17S). Se tomaron tres muestras por punto en tres fechas distintas, totalizando 108 muestras recolectadas entre junio y julio de 2024. Los puntos 1 a 6 se ubicaron a menos de 0.2 km, los puntos 7 y 8 a 0.2 km, y los puntos 9 a 12 a aproximadamente 0.5 km de la laguna.

Durante el monitoreo realizado entre junio y julio de 2024, las condiciones ambientales en la zona de estudio incluyeron una temperatura promedio de 25.8°C, una humedad del 80.4%, una velocidad del viento de 0.49 m/s, 0.05 mm de lluvia, un índice UV de 0.91 y una radiación solar de 149.5 W/m<sup>2</sup>.

El muestreo de bioaerosoles se realizó utilizando muestreadores pasivos, consistentes en cajas Petri plásticas con 20 mL de agar nutritivo (Merck, USA) suplementado con o sin dosis específicas de los antibióticos azitromicina y tetraciclina (M. Chen et al., 2019). Estas cajas se colocaron a 1.30 cm del suelo durante 2 horas, lo que permitió recoger partículas por sedimentación, facilitando la determinación de bioaerosoles cultivables (Mainelis, 2020; Osińska et al., 2021). Posteriormente, las cajas Petri se transportaron al laboratorio en un contenedor refrigerado. Una vez en el laboratorio, las cajas Petri se incubaron a 37°C durante 24 horas, para el posterior conteo de colonias bacterianas. El conteo bacteriano en unidades formadoras de colonias (UFC) se realizó utilizando una cámara Neubauer, sin necesidad de

dilución de las muestras. Posteriormente, se efectuó una Tinción de Gram conforme a las metodologías estándar (Tripathi y Sapra, 2024).

Para el aislamiento de bacterias resistentes a antibióticos, los medios de cultivo se prepararon utilizando agar nutritivo (28 g/L) y agua destilada, autoclavados a 121°C durante 15 minutos (Niang et al., 2023). Después del autoclavado, se agregaron al medio aún líquido cantidades específicas de antibióticos azitromicina (Ecuagen) y tetraciclina (Ecuaquímica), previamente trituradas en un mortero. Luego, el medio se transfirió a cajas Petri hasta su gelificación. Las cantidades específicas de antibióticos se detallan en la Tabla 1.



**Figura 1.** Mapa de ubicación con 12 puntos de monitoreo en laguna de oxidación del cantón Calceta, Manabí. Donde AR = Ingreso de agua residual doméstica.

## 2.2 Diseño Experimental

Se empleó un diseño experimental bifactorial 2x2 para evaluar la presencia de bacterias resistentes a antibióticos en bioaerosoles (Tabla 1). Los factores considerados fueron las concentraciones de azitromicina (75 y 150 mg/L) y tetraciclina (75 y 150 mg/L), estableciendo cuatro tratamientos diferentes (T1, T2, T3 y T4), con combinaciones únicas de estos antibióticos. Adicionalmente, se incluyeron controles experimentales, como un

control negativo en condiciones sin antibióticos, para garantizar la validez de los resultados obtenidos.

El análisis estadístico se inició verificando la normalidad de los datos mediante la prueba de Shapiro-Wilk, dado que la variable dependiente, expresada en unidades formadoras de colonias (UFC), no siempre presenta una distribución normal. En casos donde se evidenció no

normalidad, se emplearon métodos no paramétricos para garantizar la robustez de los resultados.

Se utilizó un modelo de superficie de respuesta (RSM, por sus siglas en inglés) para analizar la interacción entre los factores y su efecto en la proliferación de bacterias resistentes. Este análisis se llevó a cabo mediante el paquete RSM de R-Project (Lenth, 2009; R Core Team, 2020), que permitió identificar combinaciones óptimas de las concentraciones de antibióticos para minimizar la presencia de bacterias resistentes. Los resultados del modelo incluyen un gráfico tridimensional, el cual facilitó la visualización de los efectos principales y las interacciones significativas entre los factores evaluados.

**Tabla 1.** Diseño experimental con las dosis de azitromicina y tetraciclina para aislamiento de bacterias resistentes a antibióticos.

Tratamientos	Azitromicina (mg/L)	Tetraciclina (mg/L)
Testigo	-	-
1	75	75
2	75	150
3	150	75
4	150	150

### 3. Resultados

#### 3.1 Efecto de la dosis de antibiótico

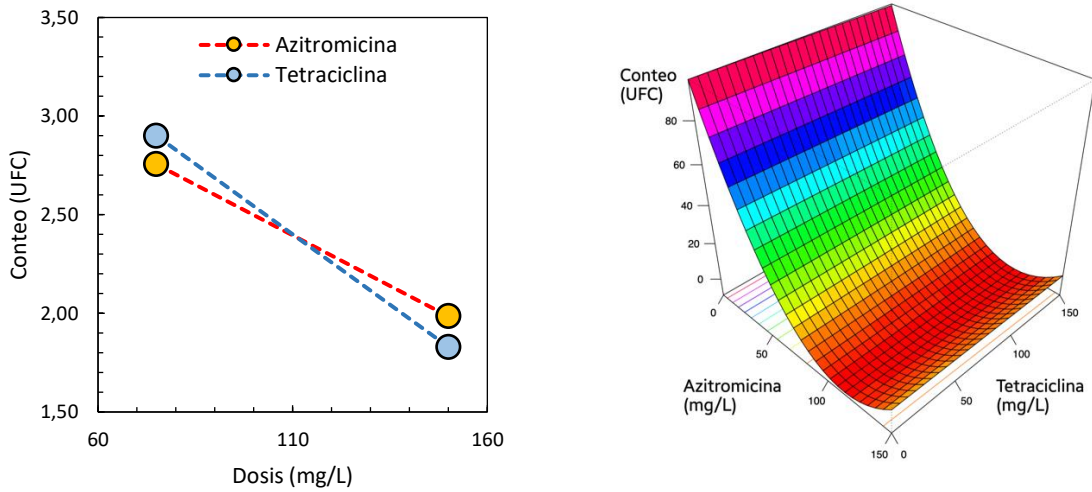
El análisis no paramétrico (Tabla 2) realizado para evaluar la resistencia antibiótica en bioaerosoles mediante cuatro tratamientos con diferentes dosis de antibióticos reveló que sí existieron diferencias significativas en el efecto de los 4 tratamientos en comparación con el testigo. La prueba de Shapiro-Wilk indicó que los datos no siguieron una distribución normal (valor  $p < 2.2 \times 10^{-16}$ ), justificando el uso de un enfoque no paramétrico. Los rangos promedio muestran que los tratamientos T2, T3 y T4 tuvieron los valores más bajos (2.15, 2.75 y 1.97, respectivamente), indicando una mayor efectividad en la reducción de la resistencia antibiótica en comparación con T1 (15.13) y el

testigo (100,15). El análisis de Chi-cuadrado ( $\chi^2 = 304,31$ ,  $gl = 4$ ,  $p < 2,2 \times 10^{-16}$ ) confirmó que las diferencias entre los grupos son estadísticamente significativas. En conjunto, los resultados sugieren que los tratamientos, especialmente T2, T3 y T4, tuvieron un impacto significativo en la reducción de la resistencia antibiótica.

**Tabla 2.** Análisis Estadístico No Paramétrico para Determinar la Distribución Normal (Prueba de Shapiro-Wilk) y Diferencias Significativas (Prueba Chi-Cuadrado)

Tratamientos	N	Rango promedio
Tratamiento T1	35	15.13
Tratamiento T2	44	2.15
Tratamiento T3	44	2.75
Tratamiento T4	36	1.97
Testigo	293	100.15
Total	159	
Estadístico		Valor
Shapiro-Wilk		$< 2.2 * 10^{-16}$
Chi-cuadrado		304.31
Grados de libertad		4
Sig. asintótica		$< 2.2 * 10^{-16}$

El diagrama de efectos principales y el modelo de superficie de respuesta (Figura 2) muestran que los tratamientos con dosis bajas (75 mg/L) de azitromicina y tetraciclina resultaron en un conteo de bacterias significativamente mayor ( $p < 0,05$ ) en comparación con las dosis altas (150 mg/L). En promedio, las dosis altas de ambos antibióticos redujeron el conteo final hasta 2 colonias bacterianas, evidenciando así un notable efecto de reducción. Estos hallazgos sugieren que la eficacia de los antibióticos es dosis-dependiente y que las concentraciones más altas son esenciales para controlar y minimizar la proliferación bacteriana.



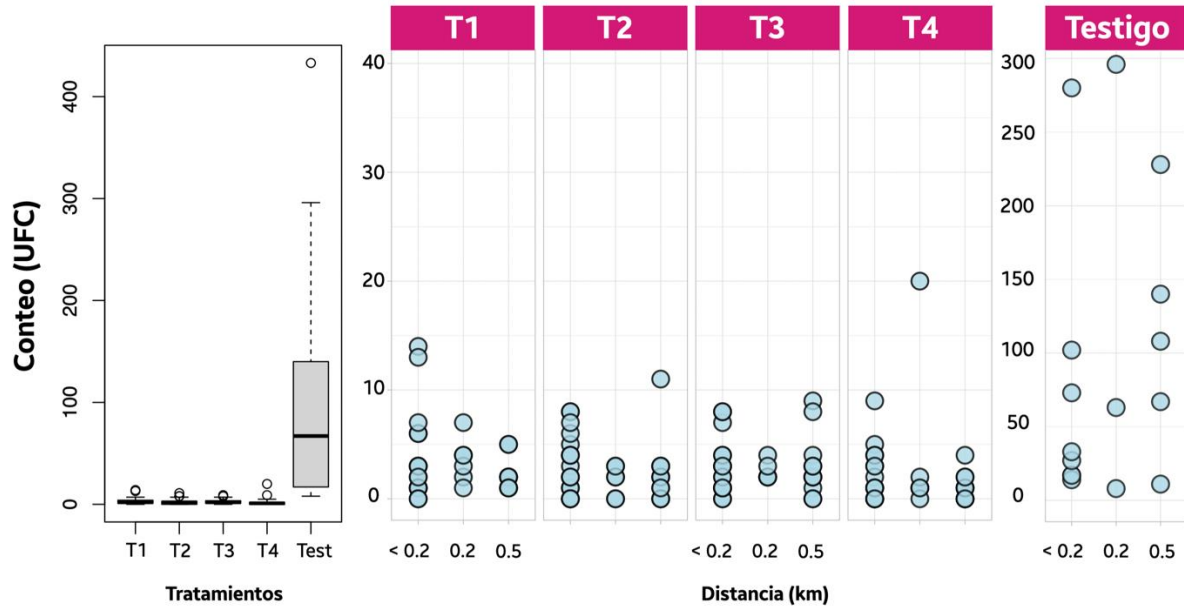
**Figura 2.** Diagrama de efectos principales (panel izquierdo) representa el efecto de las concentraciones de azitromicina y tetraciclina (75 y 150 mg/L) sobre la reducción de unidades formadoras de colonias (UFC). El modelo de superficie de respuesta (panel derecho) caracteriza la interacción dosis-efecto, evidenciando que las concentraciones altas (150 mg/L) lograron una reducción significativa en las UFC en comparación con las dosis bajas.

La Figura 3 presenta dos gráficos que analizan la distribución del conteo bacteriano (UFC) bajo diferentes tratamientos (T1, T2, T3, T4 y Testigo) en función de la distancia de muestreo (<0.2 km, 0.2 km y 0.5 km). En el gráfico de cajas, se observa que los tratamientos T1, T2, T3 y T4 mantienen valores de UFC consistentemente bajos, inferiores a 10, lo que evidencia una efectividad homogénea en la mitigación de la carga bacteriana independientemente de la distancia. En contraste, el tratamiento Testigo exhibe una variabilidad significativa, con conteos que oscilan entre 50 y 300 UFC, alcanzando picos superiores a 400 UFC, lo que pone de manifiesto la alta concentración bacteriana en ausencia de antibióticos. La diferencia entre los tratamientos y el testigo mostró ser significativa ( $p < 0.05$ ).

Por su parte, el gráfico de dispersión (Panel derecho, Fig. 3) muestra que los tratamientos T1 a T4 presentan un comportamiento uniforme con valores consistentemente inferiores a 20 UFC en todas las distancias evaluadas, lo que refuerza la

eficacia de las medidas aplicadas. En contraste con el tratamiento Testigo, los conteos

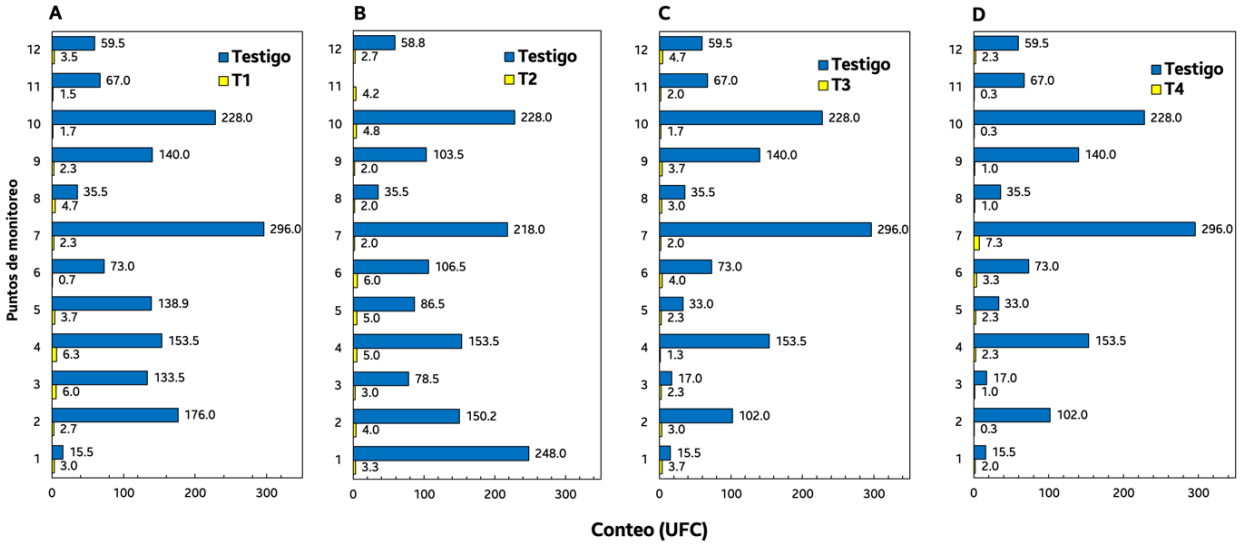
bacterianos presentaron mayor dispersión, particularmente a <0.2 km, donde se registraron valores que alcanzaron los 300 UFC, mientras que a 0.2 km y 0.5 km los conteos fluctuaron entre 50 y 150 UFC, con picos que alcanzaron nuevamente los 300 UFC. Este comportamiento denota que, a mayor distancia, y con dosis de antibióticos, la presencia de bacterias tiende a reducirse. Y, en general, la diferencia entre los tratamientos y el testigo, en función de la distancia, mostró ser significativa ( $p < 0.05$ ). Estos resultados sugieren que, en ausencia de tratamientos con antibióticos, la proximidad a la fuente de contaminación ejerce un efecto determinante sobre la creciente concentración bacteriana, mientras que la dispersión y un efecto de dilución en la densidad de esporas bacterianas a mayores distancias podría estar asociada a variables ambientales como la topografía, la dinámica del viento o el flujo hídrico. Los datos aquí reportados destacan la eficacia de los tratamientos con antibióticos en la contención bacteriana. Esto promueve la importancia de investigar efectos físico-químicos para minimizar la dispersión y el impacto ambiental de los focos de contaminación.



**Figura 3.** Diagrama de cajas para el conteo de bacterias según tratamientos y testigo (Panel izquierdo), y diagrama de puntos en función de las distancias (Km) a partir de la descarga de agua residual hasta los puntos de monitoreo (Panel derecho).

En la Figura 4, se presenta el monitoreo del conteo promedio en UFC que se llevó a cabo en 12 puntos cercanos a la laguna de oxidación de Calceta, considerando un testigo control (sin antibióticos) y cuatro tratamientos con diferentes dosis (T1, T2, T3, T4). Los valores promedios más altos de UFC se observaron en los testigos, particularmente en los puntos 4, 7 y 10, con conteos cercanos a 300 UFC. Los tratamientos con antibióticos redujeron significativamente las UFC en la mayoría de los puntos ( $p < 0.05$ ). El tratamiento T1 mostró el mayor número de bacterias resistentes, con un total de 38 bacterias

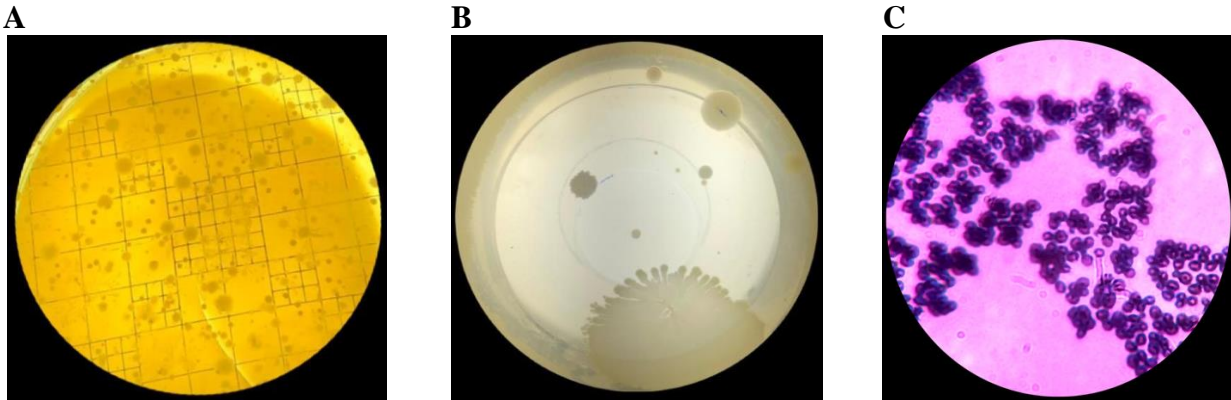
aisladas. A esta tendencia le siguieron los tratamientos T2 (44) y T3 (34). El tratamiento T4 presentó el menor conteo de bacterias (24), mostrando una reducción del 37% en comparación con T1. No obstante, no se observó una correlación clara entre la proximidad de los puntos de monitoreo a la laguna y el número de bacterias ( $p > 0.05$ ), sino con la dosis de antibióticos administrada ( $p < 0.05$ ), evidenciando que, a mayores dosis de azitromicina y tetraciclina, menor fue el conteo bacteriano.



**Figura 4.** Diagrama de barras para el conteo promedio de bacterias en función de tratamientos con dosis de antibióticos en 12 puntos de monitoreo. Donde (A) Tratamiento T1, (B) Tratamiento T2, (C) Tratamiento T3, y panel (D) Tratamiento T4.

Se realizó una tinción diferencial en las bacterias aisladas del tratamiento que mostró mayor resistencia antibiótica, correspondiente a las sometidas a altas dosis de antibióticos en el tratamiento T4. Esto indica que las bacterias

aisladas resistieron las dosis más altas suministradas, consistentes en 150 mg/L de azitromicina y 150 mg/L de tetraciclina. El análisis reveló la presencia de estafilococos Gram-positivos (Figura 5).



**Figura 5.** Imágenes fotográficas (A) bacterias aisladas en punto AR donde se descarga el agua residual, sin adición de antibióticos, (B) en el punto P1 del tratamiento T4, (C) Tinción de Gram de bacterias aisladas del P1 del tratamiento T4.

#### 4. Discusión

Los resultados indicaron que los valores promedio más altos de UFC se encontraron en los testigos, mientras que los tratamientos con antibióticos redujeron significativamente las

UFC, evidenciando que, a mayores dosis de azitromicina y tetraciclina, menor fue el conteo bacteriano. Las dosis bajas (75 mg/L) resultaron en un conteo de bacterias significativamente mayor que las dosis altas (150 mg/L), que



redujeron el conteo final hasta 2 colonias, demostrando que la eficacia de los antibióticos azitromicina y tetraciclina es dosis-dependiente. Además, los resultados mostraron que los bioaerosoles muestreados a mayor distancia de la fuente de agua residual, así como aquellos expuestos a dosis de antibióticos, presentaron una reducción en la presencia de bacterias.

La inclusión de la tetraciclina en el presente estudio, considerando que la familia de las tetraciclinas (TCs) incluye tetraciclina, oxitetraciclina (OTC) y clortetraciclina (CTC), resulta relevante debido a su amplio uso en la medicina humana y veterinaria. Actualmente, existe una preocupación creciente por su distribución en el medio ambiente, ya que los genes microbianos están desarrollando resistencia a estos fármacos (Chopra y Roberts, 2001; Liao et al., 2021). Debido a su difícil digestión y absorción, entre el 50% y el 80% de las TCs se excretan a través de la orina o las heces, contaminando el suelo, los sedimentos de los ríos, el agua superficial, las aguas subterráneas y las aguas residuales municipales (I. Han y Yoo, 2020). Estudios han reportado concentraciones de TC, OTC y CTC en sedimentos de 1.72, 2.09 y 1.90 mg/kg, respectivamente (M. Chen et al., 2019). El transporte de agua residual doméstica en canales abiertos en ciudades con un saneamiento deficiente es una fuente importante de bioaerosoles que contienen genes de resistencia antibiótica. Esto se corroboró en un estudio realizado en Kanpur, India, donde demostró que las tetraciclinas (*tetA*), las fluoroquinolonas (*qnrB*), las betalactámicas (*bla<sub>TEM</sub>*) y el integrón de clase 1 (*int1*) se encuentran en el aire próximo a estas fuentes de agua residual (Habibi et al., 2023). Otros estudios han identificado que las muestras de aire analizadas contienen genes de resistencia antibiótica como *tet(A)*, *tet(B)* y *tet(M)*, los cuales codifican resistencia a las tetraciclinas, además de los genes *bla<sub>TEM</sub>* y *bla<sub>AMP-C</sub>*, responsables de la resistencia a las betalactámicas (Banchon, 2021).

En la tinción de Gram realizada en el presente estudio, se identificaron estafilococos Gram-positivos con resistencia a antibióticos. Es importante destacar que los antibióticos de la familia de las tetraciclinas son conocidos por su amplio espectro de actividad, abarcando bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, espiroquetas, bacterias intracelulares obligadas y parásitos protozoarios (Thaker et al., 2010). La evidencia de este estudio subraya la resistencia de las bacterias presentes en el aire a este tipo de antibiótico, lo cual es relevante dado que la tetraciclina se usa clínicamente para tratar infecciones respiratorias, urogenitales y gastrointestinales (Chopra y Roberts, 2001). Sin embargo, la proliferación de mecanismos de resistencia a la tetraciclina ha limitado su efectividad, restringiendo su uso a infecciones con susceptibilidad confirmada (Grossman, 2016). Corroborando estos hallazgos, se ha reportado una prevalencia de resistencia a la tetraciclina del 44.9% en *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp. en ciertos países europeos, y a nivel global, los porcentajes de resistencia fueron de 8.7% para *Staphylococcus aureus* y 24.3% para *Streptococcus pneumoniae* (Ahmad et al., 2021; Grossman, 2016). Para subrayar la importancia de este estudio en otros ecosistemas, un estudio realizado en peces reveló que la resistencia a la tetraciclina se manifestaba en cepas de *Lactococcus garvieae*, *Staphylococcus arlettae* y *Enterobacter* spp., con resistencia a concentraciones superiores a 128 mg/L y una resistencia máxima a 1024 mg/L (Kusunur et al., 2023).

La azitromicina, un macrólido de segunda generación y antibacteriano de amplio espectro eficaz contra microorganismos Gram-positivos y algunos Gram-negativos, ha ganado atención por su uso en enfermedades crónicas (Jelić y Antolović, 2016). Este antibiótico está indicado para tratar infecciones respiratorias, urogenitales y dérmicas, además de demostrar efectos beneficiosos en trastornos inflamatorios crónicos (Parnham et al., 2014). La presencia de azitromicina en aguas residuales ha sido

ampliamente documentada, lo que genera preocupación debido a su potencial impacto ambiental, particularmente por la transmisión de genes de resistencia de este antibiótico en *Escherichia coli* (Mirzaie et al., 2022; Tabrizi et al., 2022; Niang et al., 2023). En el presente estudio, se determinó que concentraciones de azitromicina de hasta 150 mg/L no lograron inhibir el crecimiento de bacterias presentes en bioaerosoles. En estudios realizados con bioaerosoles, se evaluó la eficacia de la azitromicina frente al bacilo más dominante, observándose resistencia incluso a bajas concentraciones de este antibiótico. Estos análisis se llevaron a cabo en las cercanías de una planta de tratamiento de aguas residuales, a una distancia de 50-150 metros de la periferia (Vishwakarma et al., 2024). En el mismo estudio, se identificaron diversos problemas de salud pública en la zona, incluyendo enfermedades respiratorias, sarpullidos e irritaciones cutáneas, alteraciones en el olfato y el gusto, e irritación ocular, afectando tanto a los residentes como a los trabajadores (Vishwakarma et al., 2024).

Según lo determinado en el presente estudio, la presencia de estafilococos Gram-positivos resistentes a antibióticos en bioaerosoles generados por lagunas de oxidación plantea riesgos significativos para la salud pública en Ecuador, afectando a comunidades cercanas con enfermedades respiratorias, irritaciones cutáneas y oculares. Además, estos microorganismos pueden transferir resistencia a otros organismos en ecosistemas acuáticos y terrestres, comprometiendo la biodiversidad y sistemas agrícolas. La falta de tecnologías avanzadas en el tratamiento de aguas residuales agrava esta problemática. Se recomienda implementar sistemas de oxidación avanzada, monitorear bioaerosoles, regular el uso de antibióticos, sensibilizar a las comunidades y fomentar investigaciones interdisciplinarias para mitigar los impactos ambientales y sanitarios.

Los resultados aquí expuestos, justifican la creación de normativas específicas para regular la

disposición de antibióticos y fomentar su uso responsable en salud pública, ganadería y acuicultura. También subrayan la importancia de implementar programas de monitoreo continuo y campañas de sensibilización comunitaria para reducir la exposición a bioaerosoles contaminados, así como de promover investigaciones interdisciplinarias que orienten decisiones basadas en evidencia científica.

## 5. Conclusiones

El presente estudio resalta la relevancia de la resistencia bacteriana a los antibióticos azitromicina y tetraciclina, observada en muestras de bioaerosoles. Los resultados mostraron una reducción significativa en el conteo de unidades formadoras de colonias con los tratamientos antibióticos en comparación con los testigos, evidenciando una relación dosis-dependiente. Las dosis altas (150 mg/L) fueron más efectivas, reduciendo los conteos a niveles casi nulos en algunos puntos monitoreados, mientras que las dosis bajas (75 mg/L) fueron menos eficaces. El análisis microbiológico identificó la presencia de estafilococos Gram-positivos resistentes a antibióticos, subrayando la capacidad de los microorganismos para adaptarse a concentraciones elevadas de estos compuestos.

Este hallazgo es particularmente relevante dado el uso clínico de la tetraciclina y la azitromicina en infecciones respiratorias y gastrointestinales, así como su persistencia ambiental y capacidad para diseminar genes de resistencia. Los resultados enfatizan la importancia de implementar estrategias para mitigar la contaminación por antibióticos, como el tratamiento avanzado de aguas residuales y el monitoreo continuo de bacterias resistentes en diferentes matrices ambientales. En resumen, los bioaerosoles emitidos por las PTAR pueden dispersarse ampliamente en el aire, afectando la calidad del aire local y planteando riesgos para la salud pública y diversos ecosistemas, incluyendo la propagación de genes de resistencia a antibióticos. Este estudio destaca la necesidad de investigaciones adicionales en Ecuador, donde la

evaluación de bioaerosoles en lagunas de oxidación es escasa pero crucial para gestionar adecuadamente estos riesgos ambientales y de salud.

## 6. Agradecimientos

Expresamos nuestros más sinceros agradecimientos a nuestros padres y sobre todo a la ESPAM-MFL por su valioso apoyo en la gestión del presente trabajo, con un reconocimiento especial a la Dra. C. Miryam Elizabeth Félix López por su destacada contribución.

## 7. Declaración de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

## 8. Referencias

Ahmad, I., Malak, H. A., y Abulreesh, H. H. (2021). Environmental antimicrobial resistance and its drivers: A potential threat to public health. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 27, 101-111.

Anjali, R., y Shanthakumar, S. (2019). Insights on the current status of occurrence and removal of antibiotics in wastewater by advanced oxidation processes. *Journal of Environmental Management*, 246, 51-62. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.05.090>

Bai, H., He, L.-Y., Wu, D.-L., Gao, F.-Z., Zhang, M., Zou, H.-Y., Yao, M.-S., y Ying, G.-G. (2022). Spread of airborne antibiotic resistance from animal farms to the environment: Dispersal pattern and exposure risk. *Environment International*, 158, 106927. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106927>

Banchon, C. (2021). Airborne Bacteria from Wastewater Treatment and their Antibiotic Resistance: A Meta-Analysis. *Journal of Ecological Engineering*, 22(10), 205-214. <https://doi.org/10.12911/22998993/142207>

CDC. (2021). National Infection & Death Estimates for Antimicrobial Resistance.

Centers for Disease Control and Prevention. <https://shorturl.at/fgK08>

CDC. (2024). Datos sobre el uso de antibióticos y la resistencia a los antimicrobianos. US Centers for Disease Control and Prevention (CDC). <https://www.cdc.gov/antibiotic-use>

Chen, M., Qiu, T., Sun, Y., Song, Y., Wang, X., y Gao, M. (2019). Diversity of tetracycline- and erythromycin-resistant bacteria in aerosols and manures from four types of animal farms in China. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(23), 24213-24222. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05672-3>

Chen, Y., Yan, C., Yang, Y., y Ma, J. (2021). Quantitative microbial risk assessment and sensitivity analysis for workers exposed to pathogenic bacterial bioaerosols under various aeration modes in two wastewater treatment plants. *Science of The Total Environment*, 755, 142615. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142615>

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

Douglas, P., Robertson, S., Gay, R., Hansell, A. L., y Gant, T. W. (2018). A systematic review of the public health risks of bioaerosols from intensive farming. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 221(2), 134-173. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2017.10.019>

FAO. (2023). Resistencia a los antimicrobianos. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. <https://www.fao.org/antimicrobial-resistance>

Gaviria-Figueroa, A., Preisner, E. C., Hoque, S., Feigley, C. E., y Norman, R. S. (2019). Emission and dispersal of antibiotic resistance genes through bioaerosols generated during the treatment of municipal sewage. *Science of The Total Environment*, 686, 402-412.

- <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.454>
- Goddard, F. G. B., Pickering, A. J., Ercumen, A., Brown, J., Chang, H. H., y Clasen, T. (2020). Faecal contamination of the environment and child health: A systematic review and individual participant data meta-analysis. *The Lancet Planetary Health*, 4(9), e405-e415. [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(20\)30195-9](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(20)30195-9)
- Grossman, T. H. (2016). Tetracycline Antibiotics and Resistance. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(4), a025387. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025387>
- Habibi, N., Uddin, S., Behbehani, M., Kishk, M., Abdul Razzack, N., Zakir, F., y Shajan, A. (2023). Antibiotic Resistance Genes in Aerosols: Baseline from Kuwait. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(7), 6756. <https://doi.org/10.3390/ijms24076756>
- Han, I., y Yoo, K. (2020). Metagenomic Profiles of Antibiotic Resistance Genes in Activated Sludge, Dewatered Sludge and Bioaerosols. *Water*, 12(6), 1516. <https://doi.org/10.3390/w12061516>
- Han, Y., Yang, T., Xu, G., Li, L., y Liu, J. (2020). Characteristics and interactions of bioaerosol microorganisms from wastewater treatment plants. *Journal of Hazardous Materials*, 391, 122256. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122256>
- Jelić, D., y Antolović, R. (2016). From Erythromycin to Azithromycin and New Potential Ribosome-Binding Antimicrobials. *Antibiotics*, 5(3), 29. <https://doi.org/10.3390/antibiotics5030029>
- Kataki, S., Patowary, R., Chatterjee, S., Vairale, M. G., Sharma, S., Dwivedi, S. K., y Kamboj, D. V. (2022). Bioaerosolization and pathogen transmission in wastewater treatment plants: Microbial composition, emission rate, factors affecting and control measures. *Chemosphere*, 287, 132180. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132180>
- Kowalski, M., Wolany, J., Pastuszka, J. S., Płaza, G., Wlazło, A., Ulfig, K., y Malina, A. (2017). Characteristics of airborne bacteria and fungi in some Polish wastewater treatment plants. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 14(10), 2181-2192. <https://doi.org/10.1007/s13762-017-1314-2>
- Kusunur, A. B., Mogilipuri, S. S., Moturu, D., Benala, M., Vaiyapuri, M., Panda, S. K., George, J. C., y Badireddy, M. R. (2023). Tetracycline resistance potential of heterotrophic bacteria isolated from freshwater fin-fish aquaculture system. *Journal of Applied Microbiology*, 134(4), lxad060. <https://doi.org/10.1093/jambio/lxad060>
- Lenth, R. V. (2009). Response-Surface Methods in R , Using rsm. *Journal of Statistical Software*, 32(7). <https://doi.org/10.18637/jss.v032.i07>
- Li, J., Zhou, L., Zhang, X., Xu, C., Dong, L., y Yao, M. (2016). Bioaerosol emissions and detection of airborne antibiotic resistance genes from a wastewater treatment plant. *Atmospheric Environment*, 124, 404-412. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.06.030>
- Liao, Q., Rong, H., Zhao, M., Luo, H., Chu, Z., y Wang, R. (2021). Interaction between tetracycline and microorganisms during wastewater treatment: A review. *Science of The Total Environment*, 757, 143981. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143981>
- Lou, M., Liu, S., Gu, C., Hu, H., Tang, Z., Zhang, Y., Xu, C., y Li, F. (2021). The bioaerosols emitted from toilet and wastewater treatment plant: A literature review. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(3), 2509-2521. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11297-8>
- Mainelis, G. (2020). Bioaerosol sampling: Classical approaches, advances, and perspectives. *Aerosol Science and Technology*, 54(5), 496-519. <https://doi.org/10.1080/02786826.2019.1671950>

- Mirzaie, F., Teymori, F., Shahcheragh, S., Dobaradaran, S., Arfaeinia, H., Kafaei, R., Sahebi, S., Farjadfard, S., y Ramavandi, B. (2022). Occurrence and distribution of azithromycin in wastewater treatment plants, seawater, and sediments of the northern part of the Persian Gulf around Bushehr port: A comparison with Pre-COVID 19 pandemic. *Chemosphere*, 307, 135996. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135996>
- Niang, M., Reichard, J. F., Maier, A., Talaska, G., Ying, J., Santo Domingo, J., Varughese, E., Boczek, L., Huff, E., y Reponen, T. (2023). Ciprofloxacin- and azithromycin-resistant bacteria in a wastewater treatment plant. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 20(5-6), 219-225. <https://doi.org/10.1080/15459624.2023.2205485>
- Osińska, A., Jachimowicz, P., Niestępski, S., Harnisz, M., y Korzeniewska, E. (2021). The effects of season and processing technology on the abundance of antibiotic resistance genes in air samples from municipal wastewater treatment and waste management plants. *Environment Protection Engineering*, 47(1). <https://doi.org/10.37190/epe210108>
- Parnham, M. J., Haber, V. E., Giamarellos-Bourboulis, E. J., Perletti, G., Verleden, G. M., y Vos, R. (2014). Azithromycin: Mechanisms of action and their relevance for clinical applications. *Pharmacology & Therapeutics*, 143(2), 225-245. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2014.03.003>
- R Core Team. (2020). A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.
- Singh, N. K., Sanghvi, G., Yadav, M., Padhiyar, H., y Thanki, A. (2021). A state-of-the-art review on WWTP associated bioaerosols: Microbial diversity, potential emission stages, dispersion factors, and control strategies. *Journal of Hazardous Materials*, 410, 124686. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124686>
- Tabrizi, A. M. A., Kakhki, S., Kakhki, S., Foroughi, M., y Azghandi, M. H. A. (2022). Azithromycin resistance genes in *Escherichia coli* isolated from wastewater: Characterization and modeling-based evaluation of factors affecting the prevalence. *Process Safety and Environmental Protection*, 168, 32-41. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2022.09.067>
- Thaker, M., Spanogiannopoulos, P., y Wright, G. D. (2010). The tetracycline resistome. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67(3), 419-431. <https://doi.org/10.1007/s00018-009-0172-6>
- Tripathi, N., y Sapra, A. (2024). Gram Staining. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562156/>
- UN Water. (2020). The United Nations World Water Development Report 2020 Water and Climate Change (p. 235). UNITED NATIONS EDUCATIONAL. <https://unesdoc.unesco.org>
- UN Water. (2022). UN World Water Development Report. United Nations. [https://www.unwater.org/publication\\_categories/world-water-development-report/](https://www.unwater.org/publication_categories/world-water-development-report/)
- Vishwakarma, Y. K., Mayank, Ram, K., Gogoi, M. M., Banerjee, T., y Singh, R. S. (2024). Bioaerosol emissions from wastewater treatment process at urban environment and potential health impacts. *Journal of Environmental Management*, 361, 121202. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.121202>
- Xie, W., Li, Y., Bai, W., Hou, J., Ma, T., Zeng, X., Zhang, L., y An, T. (2021). The source and transport of bioaerosols in the air: A review. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 15(3), 44. <https://doi.org/10.1007/s11783-020-1336-8>
- Zhang, M., Zuo, J., Yu, X., Shi, X., Chen, L., y Li, Z. (2018). Quantification of multi-antibiotic resistant opportunistic pathogenic bacteria in bioaerosols in and around a pharmaceutical wastewater treatment plant.

Journal of Environmental Sciences, 72, 53-63.

<https://doi.org/10.1016/j.jes.2017.12.011>

Zieliński, W., Hubeny, J., Buta-Hubeny, M., Rolbiecki, D., Harnisz, M., Paukzto, Ł., y Korzeniewska, E. (2022). Metagenomics analysis of probable transmission of determinants of antibiotic resistance from wastewater to the environment – A case study. *Science of The Total Environment*, 827, 154354.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154354>

[4](#)

Zieliński, W., Korzeniewska, E., Harnisz, M., Drzymała, J., Felis, E., y Bajkacz, S. (2021). Wastewater treatment plants as a reservoir of integrase and antibiotic resistance genes – An epidemiological threat to workers and environment. *Environment International*, 156, 106641.

<https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106641>