

Análisis *in silico* de genes de resistencia antibiótica en bacterias de fuentes hídricas bolivianas

In silico analysis of antibiotic resistance genes in bacteria from Bolivian water sources

Fanny Patti¹ · Nayle Quisbert¹ · Wilson Siñaniz² · Nelida Nina³ · Francisco J. Pastor López⁴ · Jennifer Villavicencio⁵ · Winder Felipez^{2,6*}

¹ Universidad Nacional "Siglo XX", Carrera de Bioquímica Farmacia, Antequera, Oruro, Bolivia

² Universidad Nacional "Siglo XX", Dirección General de Investigación, Calle Campero # 46, Llallagua, Bolivia

³ Universidad Mayor de San Andrés, Instituto de Investigaciones Farmacia Bioquímicas, La Paz, Bolivia.

⁴ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental La Laguna. Matamoros, Coahuila, México

⁵ Universidad Científica del Sur, Carrera Ingeniería Agroforetal, Lima, Peru

⁶ Universidad San Francisco Xavier de Chuquisaca, Instituto de Agroecología y Seguridad Alimentaria, Calle Calvo # 132, Sucre, Bolivia

*Autor de correspondencia; winder.felipezz@gmail.com

Recibido: 01/11/2024 Aceptado: 01/12/2024

Resumen

El estudio analizó *in silico* los genes de resistencia a antibióticos (ARGs) en fuentes de agua en Bolivia, enfocándose en identificar los genes presentes y su relación filogenética con microorganismos. Se utilizaron herramientas bioinformáticas para evaluar la diversidad de ARGs en varias especies bacterianas, incluyendo *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Vibrio cholerae*, entre otras. Se seleccionaron 13 especies bacterianas de importancia clínica, ambiental e industrial, y se identificaron los genes de resistencia más comunes, como *blaTEM*, *blaOXA*, *tetA* y *intI1*. Los resultados revelaron una amplia diversidad de ARGs en fuentes de agua de Bolivia, especialmente en cuerpos como el Río La Paz y el Lago Alalay, reflejando la contaminación por aguas residuales y actividades industriales. El análisis filogenético, mostró una evolución divergente de los genes de resistencia, con clados como *blaOXA* y *ampC* mostrando una gran variabilidad. Estos hallazgos, subrayan la importancia de monitorear las diversas fuentes de agua en Bolivia para evaluar el impacto de la contaminación y su relación con la propagación de la resistencia antimicrobiana. La investigación también destaca la necesidad de políticas de manejo de recursos hídricos para mitigar este problema.

Palabras clave: Bolivia; evolución; fuentes de agua; resistencia antimicrobiana

Abstract

The study conducted an *in silico* analysis of antibiotic resistance genes (ARGs) in water sources in Bolivia, focusing on identifying the present genes and their phylogenetic relationship with microorganisms. Bioinformatics tools were used to assess the diversity of ARGs in several bacterial species, including *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Vibrio cholerae*, among others. Thirteen bacterial species of clinical, environmental, and industrial importance were selected, and the most common resistance genes, such as *blaTEM*, *blaOXA*, *tetA*, and *intI1*, were identified. The results revealed a wide diversity of ARGs in water sources in Bolivia, particularly in bodies such as the Río La Paz and Lake Alalay, reflecting contamination from wastewater and industrial activities. The phylogenetic analysis showed a divergent evolution of resistance genes, with clades like *blaOXA* and *ampC* showing significant variability. These findings highlight the importance of monitoring water sources in Bolivia to assess the impact of contamination and its relation to the spread of antimicrobial resistance. The research also underscores the need for water resource management policies to mitigate this issue.

Keywords: Bolivia, evolution, water sources, antimicrobial resistance

Introducción

La calidad del agua es crucial para la salud pública y la estabilidad ecológica, siendo la resistencia bacteriana una amenaza creciente que podría causar más de 10 millones de muertes anuales para 2050 (Pulingam et al., 2022). Este problema requiere un enfoque integral (Giono-Cerezo et al., 2020), ya que la resistencia a los antibióticos se ve cada vez más influenciada por los factores bióticos y abióticos. Asimismo, se han desarrollado estrategias para controlar la propagación de bacterias resistentes a los antibióticos (ARB), genes de resistencia a antibióticos (ARG) y elementos genéticos móviles (MGE) en el medio ambiente (Goulas et al., 2020). Pero, los ambientes acuáticos, según Rodríguez et al. (2023), funcionan como hábitats y receptores de microorganismos resistentes y contaminantes derivados de actividades humanas como la urbanización, industrialización y agricultura (Dominguez et al., 2021).

En Bolivia, la contaminación derivada de actividades mineras y la descarga de aguas residuales, ha contribuido al aumento de los genes de resistencia a antibióticos (ARGs) en fuentes de agua. Un estudio realizado en tres lagos bolivianos, el lago Pata Khota (reserva natural), el lago Milluni Chico (afectado por drenaje ácido de minas) y el lago Uru-Uru (contaminado por actividades mineras y aguas residuales), demostró cómo estas fuentes de contaminación favorecen la proliferación de microorganismos que presentan ARGs (Agramont et al., 2020). Asimismo, un análisis del río La Paz durante la pandemia de COVID-19, evaluó la resistencia antimicrobiana en sus aguas superficiales, revelando niveles preocupantes de resistencia de microorganismos (Chuilla Condori, 2022). En la Laguna Alalay, en Cochabamba, se observó un aumento en los nutrientes como fósforo y nitrógeno, acompañado de bajos niveles de oxígeno, lo que favoreció el incremento de la resistencia antimicrobiana en el entorno acuático (Pérez-Fernández et al., 2020). Estos hallazgos subrayan la gravedad de la persistencia de bacterias resistentes en los ambientes acuáticos y su capacidad para transferir mecanismos de resistencia, lo que agrava la propagación de infecciones cada vez más difíciles de tratar con antibióticos convencionales.

La contaminación generada por actividades mineras y la descarga de aguas residuales favorece la transferencia horizontal de genes (HGT) en los ecosistemas acuáticos, facilitando la propagación de ARGs. Elementos genéticos móviles como plásmidos, transposones e integrones aceleran esta diseminación entre bacterias ambientales y patógenos clínicamente relevantes (Agramont et al., 2020). Las aguas contaminadas con metales pesados, resultado de la actividad minera, representan un riesgo para la salud pública, ya que las bacterias resistentes pueden transferir estos genes a patógenos humanos, dificultando el tratamiento de infecciones y reduciendo la efectividad de los antibióticos (Zou et al., 2021). Además, los ARGs presentes en fuentes de agua potable y de riego aumentan el riesgo de transmisión a través de la cadena alimentaria (Gaeta et al., 2022).

A pesar de la creciente preocupación sobre este tema, los estudios sobre ARGs en diferentes fuentes de agua son limitados por diversos factores; disponibilidad en infraestructura biotecnológica, recursos económicos y entre otros de políticas estatales claras en Bolivia. Es necesario realizar estudios específicos sobre la calidad del agua y la presencia de microorganismos resistentes a antibióticos en diferentes fuentes de agua, para evaluar los riesgos a la salud pública y desarrollar estrategias de manejo. En este contexto, la investigación *in silico*, usando análisis de bioinformática, herramientas bioinformáticas; como BLASTp, bases de datos de pangenomas bacterianos y análisis filogenéticos, podrían aproximar la distribución de ARGs en fuentes de agua, basadas en datos referenciales de estudios previos de Bolivia.

Por tanto, el presente estudio analizó *in silico* de los genes de resistencia a antibióticos en fuentes de agua en Bolivia, respondiendo a la pregunta: ¿Cuáles son los genes de resistencia antibiótica en fuentes de agua y cómo se relacionan filogenéticamente con diferentes microorganismos? Este análisis busca proporcionar información clave sobre la propagación de la resistencia antimicrobiana en el entorno acuático y su relevancia en la salud pública, el medio ambiente y las políticas de manejo de recursos hídricos en Bolivia.

Materiales y Métodos

Análisis de bioinformática

Se usó el software VOSviewer para sistematizar la información sobre genomas bacterianos de importancia en salud pública disponibles en la base de datos Scopus (Van Eck & Waltman, 2010).

Para la selección adecuada de artículos se usaron los siguientes comandos: Article title, Abstract, Keywords (antibiotic AND resistance AND genes AND of AND microorganisms AND in AND water AND sources) OU (ARGs AND water AND sources AND mining AND centers AND Bolivia).

Selección de genomas

La búsqueda y selección de genomas bacterianos de importancia en salud pública, se realizó a partir del análisis cuantitativo. Para el análisis pan-genómico, se seleccionaron 13 especies bacterianas con relevancia clínica, ambiental e industrial, cada una con su correspondiente ID de pan-proteoma obtenido de UniProt. Entre ellas, *Escherichia coli* (UP000000625), *Pseudomonas aeruginosa* (UP000002438) y *Vibrio cholerae* (UP000000584) fueron incluidas por su relevancia en la salud humana, mientras que *Lactobacillus acidophilus* (UP000006381) representa un organismo beneficioso de la microbiota intestinal.

Asimismo, se incluyeron patógenos transmitidos por vectores, como *Borrelia burgdorferi* (UP000001807) y *Rickettsia prowazekii* (UP000002480). Especies del género *Vibrio* como; *V. navarrensis* (UP000029994) y *V. parahaemolyticus* (UP000001785), fueron consideradas por su papel en infecciones gastrointestinales. También se incluyeron bacterias de importancia industrial y ambiental como; *Streptomyces coelicolor* (UP000001973) y *Bacillus subtilis* (UP000001570). También, se seleccionaron patógenos emergentes como *Mycoplasma genitalium* (UP000000807), *Mycoplasma hominis* (UP000002631) y *Clostridium botulinum* (UP000001986), debido a su relevancia en infecciones urogenitales y enfermedades neurotóxicas.

Selección de genes de resistencia a antibióticos

La selección de los genes de resistencia a antibióticos (ARGs), se basó en la revisión de artículos científicos indexados en Scopus, priorizando aquellos con mayor frecuencia de reporte en estudios sobre resistencia bacteriana. Posteriormente, las secuencias proteicas correspondientes fueron obtenidas de la base de datos UniProt para su análisis.

Los ARGs seleccionados incluyen genes de resistencia a β -lactámicos, como *ampC*, *blaC*, *blaCTX*, *blaOXA*, *blaOXA-2*, *blaSHV*, *blaTEM* y *blaVIM-1*, los cuales codifican β -lactamasas que inactivan estos antibióticos. También se consideraron genes asociados a otros mecanismos de resistencia: *bacA* (bacitracina), *ermBC* (macrólidos), *intI1* (integrón de clase 1), *qnrB4* (quinolonas), *sul2* y *sull* (sulfonamidas), y *tetB* (tetraciclinas). Adicionalmente, se incluyeron *ubiX*, una flavina preniltransferasa involucrada en procesos metabólicos bacterianos, y *vanA*, un marcador clave en la resistencia a glicopéptidos como la vancomicina. La combinación de estos genes permite un análisis integral de la diversidad y distribución de los determinantes genéticos de resistencia en distintos contextos clínicos, industriales y ambientales.

Alineamiento local

Se aplicaron 17 genes de resistencia a antibióticos (ARGs) en TBTOOLS como query, con un p-valor de $1e-10$, en los pan-proteomas de 13 especies bacterianas. Se incluyeron *E. coli*, *P. aeruginosa* y *V. cholerae* debido a su impacto en enfermedades humanas, mientras que *L. acidophilus* representó un organismo beneficioso del microbiota intestinal. Además, se consideraron patógenos transmitidos por vectores, como *B. burgdorferi* y *R. prowazekii*; especies del género *Vibrio*, como *V. navarrensis* y *V. parahaemolyticus*; bacterias industriales y ambientales, como *S. coelicolor* y *B. subtilis*; y patógenos emergentes, como *M. genitalium*, *M. hominis* y *C. botulinum*, por su relevancia en infecciones urogenitales y enfermedades neurotóxicas.

Análisis filogenético

Para construir el árbol filogenético de los genes de resistencia a antibióticos (ARGs), se utilizó el software BEAST.v1.10.4, empleando el método Likelihood con un bootstrap de 1000000 repeticiones (Suchard et al., 2018). En total, se analizaron 75 genes de resistencia a antibióticos, todos provenientes de los microorganismos *E. coli*, *L. acidophilus*, *P. aeruginosa*, *R. prowazekii*, *V. cholerae* y *V. navarrensis*.

El Lago Uru-Uru presenta una concentración significativa de *sul1*, *sul2*, *tetA*, *blaOXA-2* e *intI1*, lo que sugiere una fuerte influencia de la contaminación minera y el vertido de aguas residuales en la propagación de ARGs. Por otro lado, el Río Choqueyapu muestra genes de resistencia a betalactámicos de amplio espectro, como *blaCTX-M*, *blaKPC*, *blaNDM*, *blaVIM* y *blaOXA-48*, lo que representa una amenaza para la salud pública debido a la posible transmisión de bacterias multirresistentes en la comunidad. En general, estos hallazgos subrayan la necesidad de un monitoreo continuo de ARGs en cuerpos de agua bolivianos para evaluar el impacto de la contaminación y su relación con la propagación de la resistencia antimicrobiana.

Tabla 1. Genes de resistencia a antibióticos (ARGs) diferentes fuentes de agua en Bolivia

Fuente	Ubicación	ARGs	Notas	Referencias
Río Choqueyapu	La Paz	<i>intI1</i> , <i>tetA</i> , <i>sul-1</i> , <i>sul-2</i> <i>qnrB1</i> , <i>qnr S1</i> , <i>blaTEM</i> , <i>bla OXA -1</i> , <i>bla CTX -M-3</i>	Alto potencial de transferencia de ARGs a <i>E. coli</i>	(Ginn et al., 2021; Guzman-Otazo et al., 2022)
Laguna Alalay	Cochabamba	<i>rpoB2</i> , <i>rpoB</i> , <i>rphA</i> , <i>rphB</i> , <i>MexB</i> , <i>MexQ</i> , <i>MexY</i> , <i>adeJ</i> , <i>acrA</i> , <i>acrB</i> , <i>acrF</i> , <i>adeJ</i> , <i>adeF</i> , <i>MexB</i> , <i>MexD</i> , <i>MexF</i> , <i>MexI</i> , <i>MexY</i> , <i>MexW</i> , <i>mdtF</i> , <i>oqxB</i> , <i>acrA</i> , <i>acrB</i> , <i>acrF</i> , <i>adeJ</i> , <i>MexB</i> , <i>MexD</i> , <i>MexY</i> , <i>oqxB</i>) <i>mupA</i> , <i>mupB</i>	Alta presencia de bacterias patógenas y genes de virulencia	(Quillaguamán et al., 2021)
Lago Titicaca	Altiplano Boliviano	<i>sulI</i> , <i>sulIII</i>	Altos niveles de contaminación por antibióticos por aguas residuales no tratadas	(Archundia et al., 2017)
Lago Uru-Uru	Oruro	<i>sul1</i> , <i>sul2</i> , <i>tetA</i> , <i>blaOXA-2</i> , <i>intI1</i>	Altos niveles ARGs por contaminación minería y aguas residuales	(Agramont et al., 2020)
Lago Milluni	La Paz	<i>sul1</i> , <i>sul2</i> , <i>blaOXA-2</i> , <i>intI1</i>	Contaminación minera. Ausencia de crAssphage	
Lago Pata Khota	La Paz	<i>sul1</i> , <i>sul2</i> , <i>tetA</i> , <i>blaOXA-2</i> , <i>intI1</i> , <i>bla IMP-12</i>		
Río Choqueyapu	La Paz	<i>blaCTX-M</i> , <i>blaKPC</i> , <i>blaNDM</i> , <i>bla-VIM</i> , <i>blaOXA-48</i>	Alto potencial de transferencia de ARGs a la comunidad	(Guzman-Otazo et al., 2019)

Alineamiento local (BLASTP)

Los resultados muestran presencia de genes de resistencia a antibióticos (ARGs) entre las especies (> 23% de identidad) considerándose posibles genes homólogos (Figura 2). *E. coli* presenta la mayor cantidad de ARGs, con 12 en *ampC*, 9 en *bacA* y 20 en *sulI*. *P. aeruginosa* tiene 5 en *blaOXA*, 3 en *blaTEM* y 3 en *tetB*, mientras que *S. coelicolor* destaca con 8 en *ampC* y 5 en *vanA*. *C. botulinum* muestra 4 en *intI1* y 4 en *sulI*. Por su parte, *V. cholerae* tiene 5 en *blaOXA* y 5 en *blaTEM*, y *V. navarrensis* presenta 2 en *blaCTX* y 3 en *sulI*. En contraste, *L. acidophilus*, *M. genitalium* y *M. hominis* muestran pocos ARGs, con 3, 1 y 1, respectivamente.

La Figura 3, muestra una variabilidad similar de ARGs entre las especies analizadas con más del 70% de identidad en los posibles genes homólogos. *E. coli* destaca con alta resistencia, evidenciada por la presencia de ARGs como *ampC* (10), *bacA* (9) e *intI1* (9). *P. aeruginosa* presenta menor cantidad de resistencia, con genes como *blaVIM-1* (2) y *blaCTX* (1). *L. acidophilus* tiene una resistencia mínima, con solo *ermBC* (1) e *intI1* (1), lo que sugiere su rol beneficioso en el microbiota intestinal. *R. prowazekii* y *V. cholerae* muestran resistencia moderada, mientras que *V. navarrensis* tiene los niveles más bajos, con solo tres genes identificados. Estos resultados, destacan la variabilidad en la resistencia a antibióticos entre las especies, subrayando la necesidad de un monitoreo constante, especialmente en patógenos humanos.

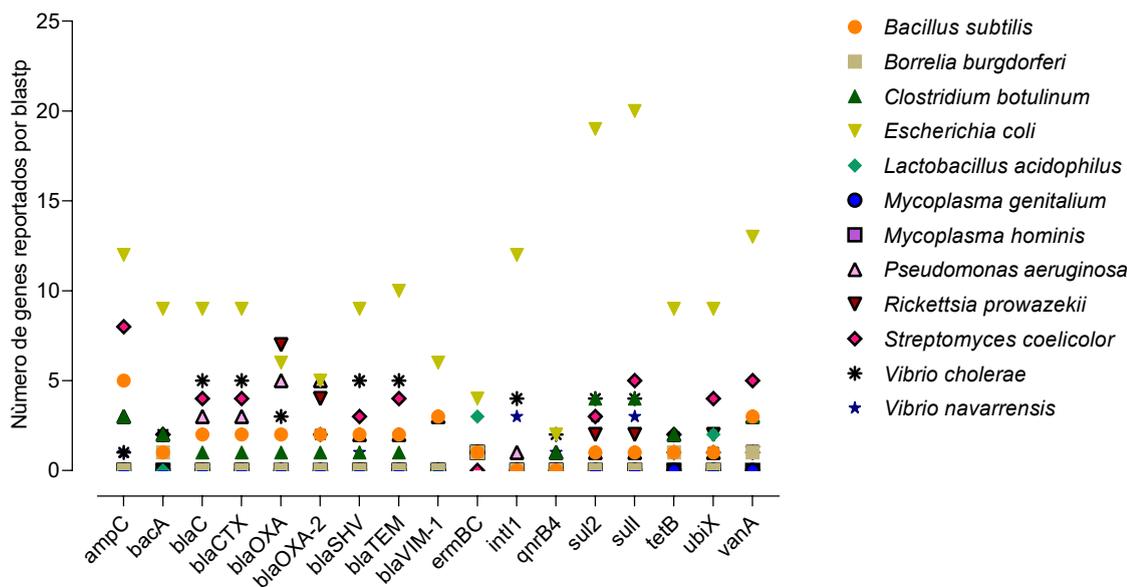


Figura 2. Distribución de genes de resistencia a antibióticos (ARGs) en 6 especies bacterianas de clínica e industrial, determinada mediante BLASTP (>70 % de identidad y p-valor de 1e-10).

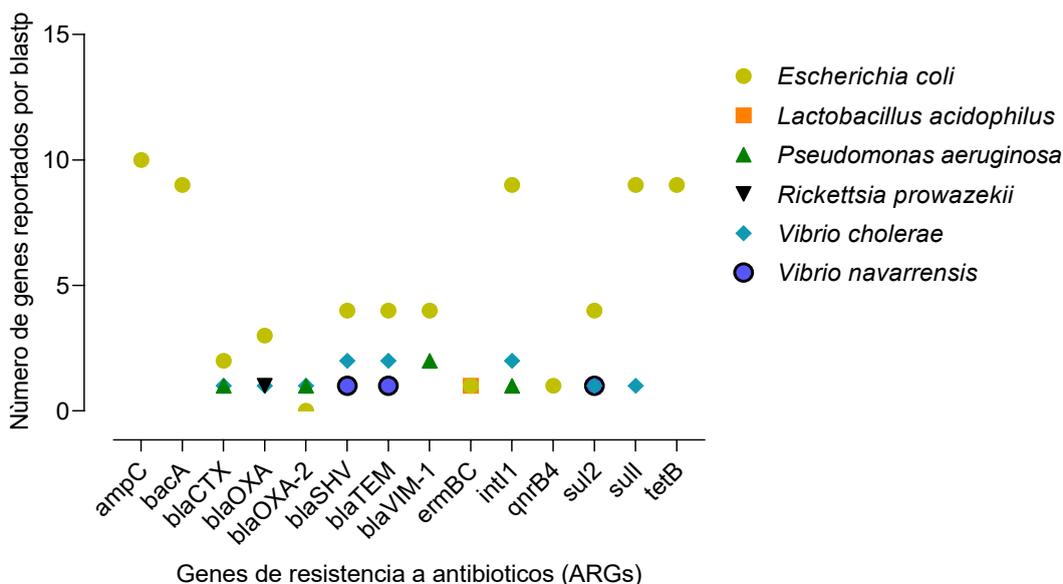


Figura 3. Distribución de genes de resistencia a antibióticos (ARGs) en 6 especies bacterianas de relevancia clínica e industrial, determinada mediante BLASTP (>70 % de identidad y p-valor de 1e-10).

Relaciones filogenéticas de los principales genes ARGs

El análisis filogenético, presentan seis clados bien definidos en distintos niveles de divergencia evolutiva, lo que sugiere diferencias en la dinámica de propagación y adaptación de los genes de resistencia (Figura 4). El clado *blaVIM*, asociado a carbapenemasas en *E. coli* y *P. aeruginosa*, muestra una divergencia total de 11.0 unidades (cambio evolutivo), con una bifurcación inicial de 1.0 - 2.0 unidades y una diferenciación posterior en *E. coli* de 3.0 unidades adicionales. De manera similar, el clado *bacA*, involucrado en la resistencia a bacitracina en *E. coli*, presenta una divergencia de 11.0 unidades, con dos subgrupos principales de 6.0 y 4.0 unidades, lo que indica menor variabilidad en comparación con otros clados. Por otro lado, los genes *blaCTX* y *blaSHV*, asociados a la resistencia a cefalosporinas en *E. coli*, *P. aeruginosa* y *V. cholerae*, presentan una divergencia total de 12.0 unidades, con bifurcaciones de hasta 7.0 unidades, lo que sugiere una mayor diversificación evolutiva.

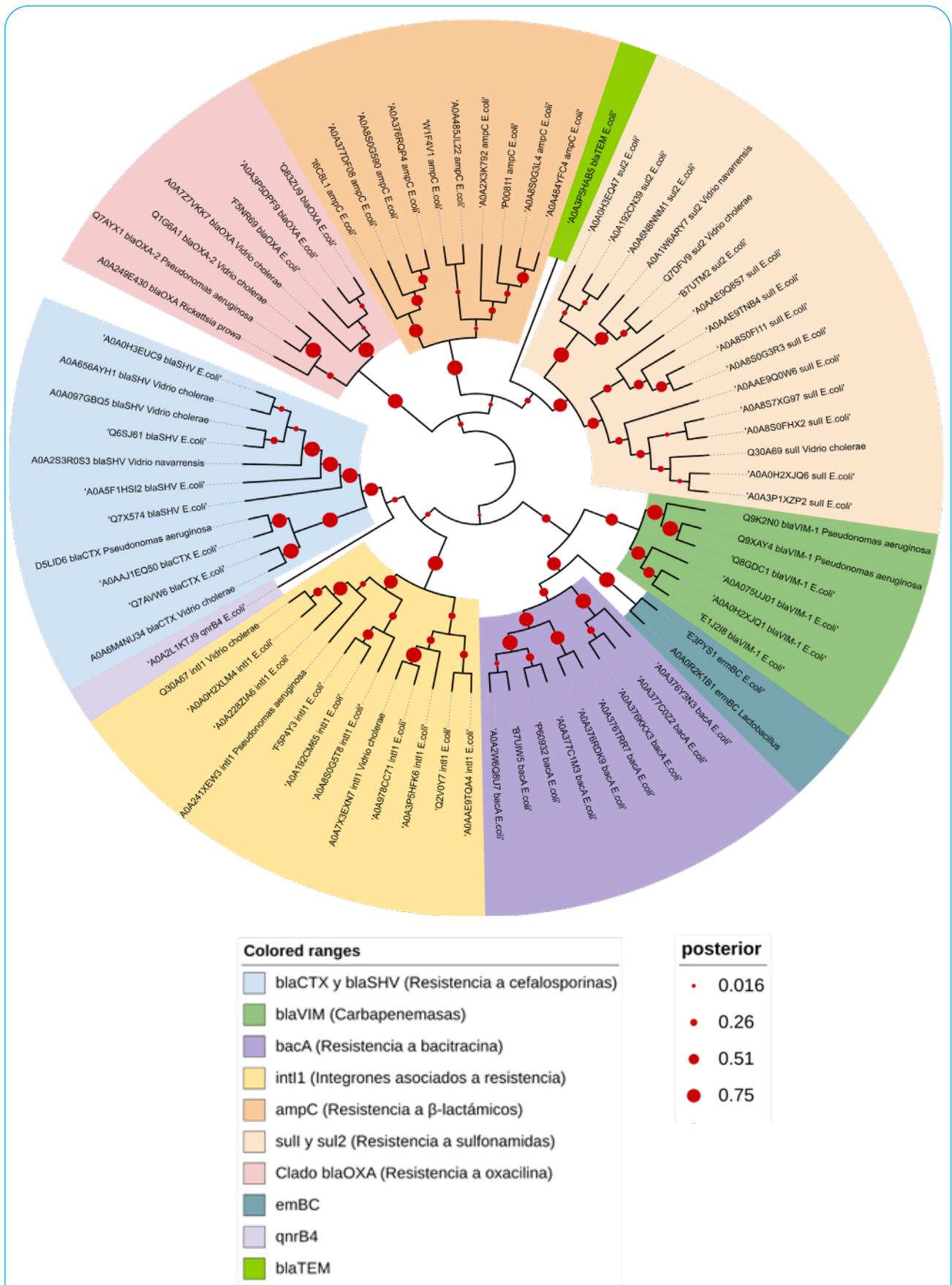


Figura 4. Relación filogenética de genes de resistencia antibiótica en microorganismo bacteriano: los rangos de colores representan los clados o grupos y los puntos rojos, representan la probabilidad posterior de evolución de los ARGs.

En los clados con mayor divergencia, como *ampC* (17.0 unidades) y *sull/sul2* (16.0 unidades), se observa una diversificación más amplia dentro de *E. coli* y *V. cholerae*, lo que indica una evolución activa de estos genes. Sin embargo, el clado *blaOXA*, que incluye *E. coli*, *P. aeruginosa*, *V. cholerae* y *R. prowazekii*, presenta la mayor divergencia con 27.0 unidades, sugiriendo múltiples eventos de recombinación y transferencia horizontal. En general, los genes *blaVIM* y *bacA* parecen haber sido adquiridos recientemente, mientras que *blaOXA* ha sufrido una evolución más compleja, probablemente debido a su diseminación en diversas especies bacterianas.

Discusión

Los genes de resistencia a antibióticos (ARGs) en fuentes de agua representan un problema ambiental y de salud pública debido a su propagación en diferentes ecosistemas acuáticos. La presencia de ARGs en cuerpos de agua afectados por actividades antropogénicas, como la minería, el tratamiento de aguas y la contaminación por residuos hospitalarios, ha sido ampliamente documentada (Zou et al., 2021; Agramont et al., 2020). La resistencia bacteriana en estos ambientes compromete la efectividad de los antibióticos y aumenta el riesgo de transmisión de genes de resistencia a microorganismos patógenos.

Las fuentes de agua impactadas por la minería han mostrado una alta prevalencia de ARGs, incluyendo *sul1*, *tetA* y genes de resistencia al cloranfenicol, presentes en bacterias de los grupos Proteobacteria, Bacteroidetes y Actinobacteria (Zou et al., 2021). En Bolivia, la actividad minera ha contribuido a la diseminación de *tetA*, *sul1*, *sul2* y *blaOXA-2* en lagos afectados por descargas de aguas residuales (Agramont et al., 2020), lo que sugiere que las actividades industriales son una fuente clave de ARGs en ecosistemas acuáticos. Asimismo, el agua cruda utilizada en plantas de tratamiento en áreas rurales contiene ARGs como *tetA* y *sul1*, detectados en *E. coli*, *E. cloacae*, *P. aeruginosa* y *K. pneumoniae* (Bergeron et al., 2017). La contaminación de fuentes de agua potable con estos genes representa un riesgo sanitario considerable, ya que facilita la propagación de bacterias resistentes en comunidades humanas.

A nivel global, la diseminación de ARGs en fuentes de agua es una preocupación creciente. En Irán, se han identificado *blaTEM*, *blaCTX*, *blaSHV* y *blaOXA* en agua superficial, destacando la propagación de resistencia a betalactámicos en ambientes naturales (Ranjbar & Sami, 2017). De manera similar, en el Valle de Katmandú, Nepal, la detección de *sul1*, *intI1* y *tetA* en aguas de ríos y pozos poco profundos sugiere la influencia de la contaminación antropogénica en la proliferación de genes de resistencia (Amarasiri et al., 2022). Además, en ambientes hospitalarios, se han detectado ARGs asociados a infecciones nosocomiales, como *mecA*, *pol* y *icaA-D* en *Staphylococcus aureus*, lo que contribuye a la formación de biopelículas y resistencia a múltiples antibióticos (Chen et al., 2021; Kadkhoda et al., 2020). *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* también actúan como reservorios de resistencia, portando genes como *blaOXA-51-like* y *mcr-1*, lo que incrementa el riesgo de infecciones difíciles de tratar (Bebaei et al., 2021; Dolma et al., 2022).

Los resultados del alineamiento local muestran una variabilidad significativa en la distribución de ARGs entre especies bacterianas, lo que concuerda con estudios previos que han identificado una alta presencia de estos genes en fuentes de agua impactadas por actividades humanas (Agramont et al., 2020; Zou et al., 2021). En este estudio, *E. coli* presentó la mayor cantidad de ARGs, lo cual es consistente con hallazgos en agua superficial y subterránea afectada por contaminación minera y residuos urbanos, donde se han identificado genes como *sul1*, *tetA* y *blaTEM* (Bergeron et al., 2017; Ranjbar & Sami, 2017). La detección de *blaOXA* y *tetB* en *P. aeruginosa* respalda su papel como reservorio de resistencia en ambientes acuáticos contaminados (Alexander et al., 2015). En contraste, la baja presencia de ARGs en especies como *L. acidophilus* y *M. genitalium* sugiere que estas bacterias no están expuestas a las mismas presiones de selección que los patógenos oportunistas.

Cuando se comparan los ARGs con un umbral de identidad superior al 70%, se observa un patrón similar, con *E. coli* y *P. aeruginosa* destacándose por su carga de resistencia, lo que es coherente con estudios en fuentes de agua cruda y pozos poco profundos en Nepal y Alemania (Amarasiri et al., 2022; Cheng et al., 2021). En particular, la identificación de *blaVIM-1* y *ermBC* en *P. aeruginosa* y *L. acidophilus* refuerza la preocupación sobre la diseminación de resistencia en comunidades microbianas diversas (Bebaei et al., 2021; Chen et al., 2021). Estos hallazgos subrayan la importancia del monitoreo continuo de los ARGs en ambientes acuáticos para evaluar el impacto de la contaminación en la salud pública.

El análisis filogenético de los ARGs reveló agrupaciones específicas que sugieren una transferencia horizontal activa entre bacterias ambientales y patógenos oportunistas. La estrecha relación entre *E. coli* y *P. aeruginosa* en genes como *ampC* y *blaVIM-1* indica una posible fuente común de resistencia, relacionada con la exposición a aguas contaminadas con residuos hospitalarios y efluentes mineros (Alexander et al., 2015; Zou et al., 2021). Asimismo, la agrupación de *E. coli* con genes *sul1* y *blaTEM* coincide con estudios previos en aguas residuales y lagos contaminados en Bolivia e Irán, donde estos genes han sido ampliamente documentados (Agramont et al., 2020; Ranjbar & Sami, 2017).

La relación filogenética entre *V. cholerae* y *Rickettsia spp.* mediante *blaVIM-1* y *blaOXA* sugiere una posible transferencia horizontal a través de vectores ambientales o interacciones en reservorios acuáticos (Amarasiri et al., 2022). Además, la presencia de genes como *sul2* en *V. cholerae* y *E. coli* indica que bacterias de origen acuático pueden actuar como intermediarias en la propagación de resistencia a antibióticos en entornos urbanos y rurales (Bergeron et al., 2017). Finalmente, la relación entre *P. aeruginosa* y *V. cholerae* en cuanto a *blaOXA-2* y *blaCTX* refuerza la idea de una evolución convergente en respuesta a la exposición a antibióticos en distintos ecosistemas acuáticos (Cheng et al., 2021). En conjunto, estos resultados resaltan la importancia de analizar la filogenia de los ARGs para comprender mejor los mecanismos de dispersión y los riesgos asociados a la resistencia a antibióticos en el ambiente.

Conclusión

El estudio analizó *in silico* la presencia y la relación filogenética de genes de resistencia a antibióticos (ARGs) en fuentes de agua de Bolivia. A través de un enfoque cuantitativo y bioinformático, se identificaron genes como *tetA*, *sul1*, *sul2* y *blaOXA-2*, previamente asociados con ambientes afectados por actividades mineras y vertido de aguas residuales. El análisis filogenético evidenció que estos genes están estrechamente relacionados con bacterias como *E. coli*, *P. aeruginosa* y *V. cholerae*, lo que sugiere una posible transferencia horizontal entre microorganismos ambientales y patógenos oportunistas. Estos hallazgos destacan la importancia de monitorear la diseminación de ARGs en ecosistemas acuáticos, debido a sus implicaciones para la salud pública, la seguridad alimentaria y la conservación ambiental. Además, refuerzan la necesidad de mejorar los sistemas de tratamiento de aguas, establecer normativas ambientales más estrictas y fomentar el uso responsable de antibióticos.

Declaración de conflictos de interés

Los autores no tienen conflictos de interés en la presente investigación.

Contribución de los autores

F.P. y **N. Q.** participaron en la recolección y análisis de secuencias genéticas, así como en la búsqueda bibliográfica y redacción preliminar del manuscrito. **W.S.** y **W. F.** realizaron el procesamiento bioinformático, el análisis *in silico* de genes de resistencia y la interpretación de los hallazgos. **N.N.**, **F. J. P. L.** y **J. V.** contribuyeron a la estructura metodológica, revisión crítica y ajuste del manuscrito a las normas editoriales. **W. F.** coordinó el equipo de trabajo, supervisó el análisis general del estudio y fue responsable de la versión final para su publicación.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Dirección General de Investigación de la Universidad Nacional "Siglo XX" y al Instituto de Agroecología y Seguridad Alimentaria de la Universidad San Francisco Xavier de Chuquisaca, por el apoyo brindado en infraestructura tecnológica para el análisis de datos.

Referencias

- Alexander, J., Bollmann, A., Seitz, W., & Schwartz, T. (2015). Microbiological characterization of aquatic microbiomes targeting taxonomical marker genes and antibiotic resistance genes of opportunistic bacteria. *Science of the Total Environment*, 512–513, 316–325. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.01.046>
- Agramont, J., Gutiérrez-Cortez, S., Joffré, E., Sjöling, Å., & Calderon Toledo, C. (2020). Fecal pollution drives antibiotic resistance and class 1 integron abundance in aquatic environments of the Bolivian Andes impacted by mining and wastewater. *Microorganisms*, 8(8), 1122. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8081122>
- Amarasiri, M., Sano, D. & Suzuki, S., 2020. Understanding human health risks caused by antibiotic resistant bacteria (ARB) and antibiotic resistance genes (ARG) in water environments: Current knowledge and questions to be answered. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 50(19), 2016–2059. <https://doi.org/10.1080/10643389.2019.1692611>
- Archundia, D., Duwig, C., Lehembre, F., Chiron, S., Morel, M. C., Prado, B., ... & Martins, J. M. F. (2017). Antibiotic pollution in the Katari subcatchment of the Titicaca Lake: Major transformation products and occurrence of resistance genes. *Science of The Total Environment*, 576, 671-682. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.129>
- Bergeron, S., Raj, B., Nathaniel, R., Corbin, A. & LaFleur, G., 2017. Presence of antibiotic resistance genes in raw source water of a drinking water treatment plant in a rural community of USA. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 124, 3-9. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.05.024>
- Bebaei, S., Pourabdollah, M., Aslanimehr, M., Nikkhahi, F., Mahmoodian, S., Hasani, Y., & Sheikholeslami, F. M. (2021). Frequency of Multi-Drug Resistance and Molecular Characteristics of Resistance to Colistin in *Acinetobacter baumannii* Collected from Patients in Intensive Care Units with Ventilator-Associated Pneumonia. *Tanaffos*, 20(4), 345–352
- Chen, L., Wang, Z., Xu, T., Ge, H., Zhou, F., Zhu, X., Li, X., Qu, D., Zheng, C., Wu, Y., & Zhao, K. (2021). The role of graRS in regulating virulence and antimicrobial resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in Microbiology*, 12, 727104. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.727104>
- Cheng, S., Lu, P., & Feng, Q.-Y. (2021). Distribution of Antibiotic Resistance Genes and Microbial Communities in a Fishery Reclamation Mining Subsidence Area. *Huanjing Kexue/Environmental Science*, 42(5), 2541–2549. <https://doi.org/10.13227/j.hjhx.202009166>
- Chuilla Condori, A. (2024). Estudio de la resistencia antimicrobiana en aguas superficiales del río La Paz durante el periodo de mayo 2021 - agosto 2022, en el contexto de la pandemia COVID-19 [Tesis de licenciatura, Universidad Mayor de San Andrés]. Repositorio Institucional UMSA. <http://repositorio.umsa.bo/xmlui/handle/123456789/39737>
- Gaeta, N. C., de Carvalho, D. U., Fontana, H., Sano, E., Moura, Q., Fuga, B., Munoz, P. M., Gregory, L., & Lincopan, N. (2022). Genomic features of a multidrug-resistant and mercury-tolerant environmental *Escherichia coli* recovered after a mining dam disaster in South America. *Science of the Total Environment*, 823, 153590. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153590>
- Giono-Cerezo, S., Santos-Preciado, J. I., Morfín-Otero, M. del R., Torres-López, F. J., & Alcántar-Curie, M. D. (2020). Resistencia antimicrobiana: Importancia y esfuerzos por contenerla [Antimicrobial resistance: Its importance and efforts to control it]. *Gaceta Médica de México*, 156, 172–180. <https://doi.org/10.24875/GMM.20005624>
- Goulas, A., Belhadi, D., Descamps, A., et al. (2020). How effective are strategies to control the dissemination of antibiotic resistance in the environment? A systematic review. *Environmental Evidence*, 9(1), 4. <https://doi.org/10.1186/s13750-020-0187-x>
- Guzman-Otazo, J., Gonzales-Siles, L., Poma, V., Bengtsson-Palme, J., Thorell, K., Flach, C. F., ... & Sjöling, Å. (2019). Diarrheal bacterial pathogens and multi-resistant enterobacteria in the Choqueyapu River in La Paz, Bolivia. *PLoS One*, 14(1), e0210735. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210735>
- Pulingam, T., Parumasivam, T., Gazzali, A. M., Sulaiman, A. M., Chee, J. Y., Lakshmanan, M., Chin, C. F., & Sudesh, K. (2022). Antimicrobial resistance: Prevalence, economic burden, mechanisms of resistance and strategies to overcome. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 170, 106103. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2021.106103>
- Quillaguamán, J., Guzmán, D., Campero, M., Hoepfner, C., Relos, L., Mendieta, D., Higdón, S. M., Eid, D., & Fernández, C. E. (2021). The microbiome of a polluted urban lake harbors pathogens with diverse antimicrobial resistance and virulence genes. *Environmental Pollution*, 273, 116488. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116488>
- Suchard, M. A., Lemey, P., Baele, G., Ayres, D. L., Drummond, A. J., & Rambaut, A. (2018). Bayesian phylogenetic and phylodynamic data integration using BEAST 1.10. *Virus Evolution*, 4(1), vey016. <https://doi.org/10.1093/ve/vey016>
- Ranjbar, R., & Sami, M. (2017). Genetic investigation of beta-lactam associated antibiotic resistance among *Escherichia coli* strains isolated from water sources. *The Open Microbiology Journal*, 11, 203–210. <https://doi.org/10.2174/1874285801711010203>
- Rodríguez, E. A., & Jiménez-Quiceno, J. N. (2023). Resistencia bacteriana a antibióticos en ambientes acuáticos: Origen e implicaciones para la salud pública. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 41(3). <https://doi.org/10.17533/udea.rfnsp.e351453>
- Zou, H. Y., He, L. Y., Gao, F. Z., Zhang, M., Chen, S., Wu, D. L., Liu, Y. S., He, L. X., Bai, H., & Ying, G. G. (2021). Antibiotic resistance genes in surface water and groundwater from mining affected environments. *Science of the Total Environment*, 772, 145516. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145516>