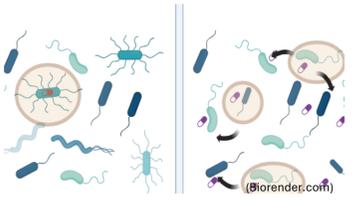


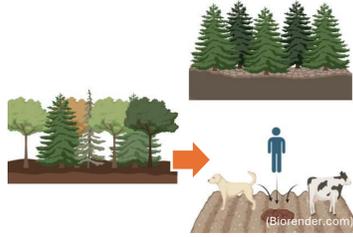
INTRODUCCIÓN

La resistencia antimicrobiana es la capacidad de los microorganismos de poder mantenerse y propagarse en concentraciones antimicrobianas que podrían ser letales



Los microorganismos resistentes se han detallado en el suelo, hábitat complejo, que podría ser influenciado e impulsar resistencia.

Las actividades antropogénicas han introducido antibióticos, cepas resistentes y genes de resistencia a antimicrobianos en el suelo.



(Baquero *et al.* 2013, Cytryn 2013, Fernández *et al.* 2020)

En muestras ambientales, y relacionadas el sector agropecuario, se han descrito genes de resistencia a:

- Cefotaxima (bla_{CTX-M})
- Cloranfenicol-fenicol (cfr)
- Quinolona (qnrS)
- Colistina (mcr-1)



(MSP 2018, Guijarro 2019, Hedman *et al.* 2019, Mendoza 2019, Yamamoto *et al.* 2019)

La Esperanza

Cambios en la cobertura del suelo

Principal actividad económica es la agropecuaria



Fig. 1. Tipologías de uso de suelo usadas en el estudio

OBJETIVOS

Analizar la presencia de los genes de resistencia bla_{CTX-M}, cfr, mcr-1 y qnrS, las tipologías de uso de suelo (en bosque nativo, bosque plantado, pastizal, zona agrícola y vegetación regenerativa) obtenidas de la Parroquia de La Esperanza

Identificar los genes de cebadores específicos en ADN total obtenido

Comparar la presencia de los genes según las distintas tipologías de usos del suelo.

METODOLOGÍA

Área de estudio

- La comunidad de Guaraquí, parroquia La Esperanza (Pedro Moncayo-Pichincha).
- Coordenadas: -78,25716; 0,08222
- Extensión: 37,93 Km²
- 12 tipologías de uso de suelo definidas, utilizadas cinco en este estudio.

(GAD La Esperanza 2015)

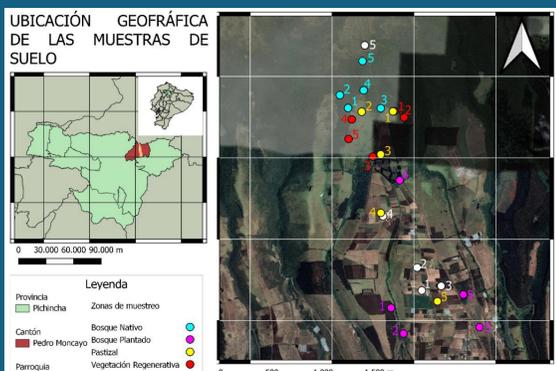


Fig. 2. Área de en el estudio

Métodos

- Cada tipología tuvo cinco muestras, total 25.
- Muestras de suelo colectadas en el 2019 (Rosero 2022), utilizadas en 2023 para este estudio.
- Validez de PCR por triplicado.

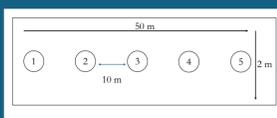


Fig. 3. Transecto para la colecta de cada muestra de suelo

Tabla. 1. Par de cebadores utilizados por cada gen.

Gen	Secuencia	Amplificon (bp)	Condiciones de PCR	Referencia
bla _{CTX-M}	CGCTTGGGATGGCAG ACCGCGATCGTTGGT	551	5 min 94°C, 35 ciclos (30s 94°C, 30s 55°C, 1min 72°C), 10 min 72°C.	Bonnet <i>et al.</i> 2000
cfr	TGAAGTAAAGCAGGTGG GAGTCA ACCATATAATTGACCACAAG CAGC	746	1 min 94°C, 34 ciclos (1 min 94°C, 2 min 48°C, 3 min 72°C), 7 min 72°C.	Kehrenberg & Schwarz 2006
qnrS	AAAGTGATCTCACCTTCACCG CTTG TAAGTCTGACTCTTCAGTGA TG	425	5 min 95°C, 40 ciclos (1 min 95°C, 45s 53°C, 1 min 72°C), 10 min 72°C.	Colomer-Lluch <i>et al.</i> 2014
mcr-1	CGGTCAGTCCGTTGGTTC CTTGGTCGGTCTGATGGG	309	3 min 94°C, 40 ciclos (30s 94°C, 1 min 61.5°C, 30s 72°C), 10 min 72°C.	Liu <i>et al.</i> 2016



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contrario a lo esperado, se encontró genes de resistencia en el suelo menos modificado

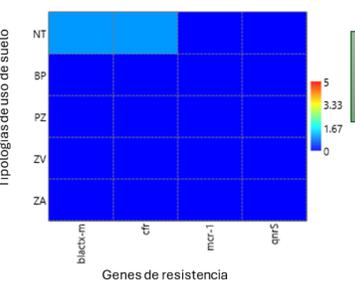


Fig. 4. Tipologías pertenecientes a bosque nativo (NT), bosque plantado (BP), pastizal (PT), vegetación regenerativa (ZR) y zona agrícola (ZA).

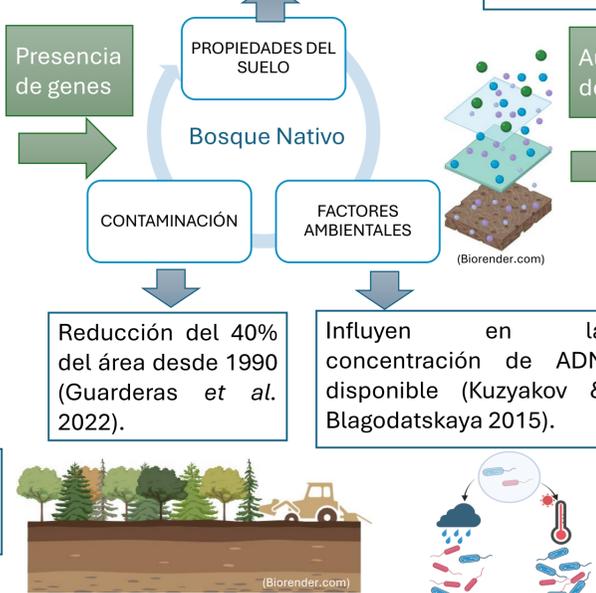
La presencia de bla_{CTX-M} y cfr tuvo una frecuencia de 20% en bosque nativo.

Según Kittredge *et al.* (2022) podría favorecer la presencia y transferencia de genes de resistencia

Rosero (2022) mencionó que la calidad del suelo de bosque nativo fue la mejor entre las cinco tipologías.

Moreira (2022) encontró Integrón de clase 1.

Distinto origen de las muestras en comparación con Guijarro (2019) y Mendoza (2019).



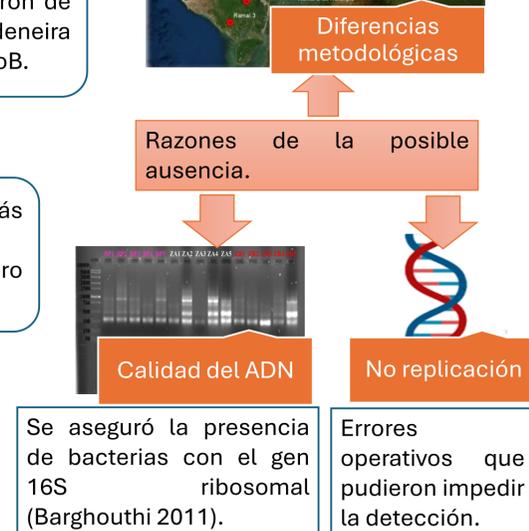
Reducción del 40% del área desde 1990 (Guarderas *et al.* 2022).

Influyen en la concentración de ADN disponible (Kuzaykov & Blagodatskaya 2015).

Moreira (2022) encontró Integrón de clase 1 y Rivadeneira (2024) el gen rpoB.

Tipologías más modificadas según Rosero (2022).

Moreira (2022) y Rivadeneira (2024) indicaron ausencia del Integrón y genes objetivos, respectivamente. Sin embargo, no se descarta que haya otros genes de resistencia.



Se aseguró la presencia de bacterias con el gen 16S ribosomal (Barghouthi 2011).

Errores operativos que pudieron impedir la detección.

CONCLUSIONES

El análisis de los genes de resistencia en las muestras de suelo indicó que las características de las tipologías de uso de suelo probablemente influyeron en la detección de genes de resistencia estudiados.

Los genes cfr y bla_{CTX-M} podrían haberse preservado en el suelo de bosque nativo debido a factores intrínsecos y extrínsecos del suelo, mismos que influirán en la concentración de ADN objetivo.

La ausencia de bla_{CTX-M}, cfr, mcr-1 y qnrS en las tipologías de vegetación regenerativa, zona agrícola, pastizal y bosque plantado podría ser el resultado de la naturaleza del suelo (propiedades, manejo, entre otros) por lo que se recomienda realizar estudios que tomen en cuenta la heterogeneidad del suelo para conclusiones más precisas sobre ausencia de genes de resistencia.

REFERENCIAS

-Baquero F, Tedim AP, Coque TM. 2013. Antibiotic resistance shaping multi-level population biology of bacteria. *Front Microbiol.* 4(MAR).
 -Barghouthi SA. 2011. A Universal Method for the Identification of Bacteria Based on General PCR Primers. *Indian J Microbiol.* 51(4):430-444.
 -Cytryn E. 2013. The soil resistome: The anthropogenic, the native, and the unknown. *Soil Biol Biochem.* 63:18-23.
 -Fernández RE, Bolívar-Anillo H, Turcios CH, García LC, Hernández MS, Abdellah E. 2020. Antibiotic resistance: the role of man, animals and the environment. *Salud Uninorte.* 36(1):298-324.
 -GAD Pedro Moncayo. 2015. Actualización Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial 2011 - 2023. Pichincha-Ecuador: Fundación Cimas del Ecuador. 332p.
 -Guarderas P, Smith F, Dufrene M. 2022. Land use and land cover change in a tropical mountain landscape of northern Ecuador: Altitudinal patterns and driving forces. *PLoS One.* 17(7): e0260191.
 -Guijarro VI. 2019. Evaluación de la diseminación de genes de resistencia a antibióticos en muestras de aguas superficiales, sedimentos de río y canales de agua de riego en cinco provincias del Ecuador. Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previa a la obtención del Título de Ingeniero Bioquímico. Ambato-Ecuador: Universidad Técnica de Ambato. 94p.
 -Hedman HD, Eisenberg JNS, Vasco KA, Blair CN, Trueta G, Berrocal VI, Zhang L. 2019. High prevalence of extended-spectrum beta-lactamase CTX-M-producing *Escherichia coli* in small-scale poultry farming in rural Ecuador. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* 100(2):374-376.
 -Kittredge HA, Dougherty KM, Evans SE. 2022. Dead but Not Forgotten: How Extracellular DNA, Moisture, and Space Modulate the Horizontal Transfer of Extracellular Antibiotic Resistance Genes in Soil. *Appl Environ Microbiol.* 88(7): e02280-21.
 -Kuzaykov Y, Blagodatskaya E. 2015. Microbial hotspots and hot moments in soil: Concept & review. *Soil Biol Biochem.* 83:184-199.
 -Mendoza D. 2019. Presencia de enterobacterias portadoras de genes de resistencia a antibióticos emergentes procedentes de aguas de riego y superficiales del Ecuador, año 2019. Trabajo de titulación previo a la obtención del grado académico de Magister en Agronomía Mención Cambio Climático. Ambato-Ecuador: Universidad Técnica de Ambato. 56p.
 -Ministerio de Salud Pública (MSP). 2018. Reporte de datos: Resistencia a los antimicrobianos en Ecuador 2014-2018. 10p.
 -Moreira C. 2022. Análisis de diversidad del casete integrón I (resistencia a antibióticos) en muestras de ADN de suelos con diferentes tipos de uso de la parroquia La Esperanza, Cantón Pedro Moncayo, Pichincha-Ecuador. Trabajo de titulación (modalidad Proyecto de Investigación) previa a la obtención del Título de Licenciada en Ciencias Biológicas y Ambientales. Quito-Ecuador: Universidad Central del Ecuador. 74p.
 -Rivadeneira G. 2024. Identificación mediante PCR de genes rpoB, gapA y tonB que confieren resistencia a antibióticos en diferentes tipos de uso de suelo en la comunidad de Guaraquí, Parroquia La Esperanza, Cantón Pedro Moncayo. Trabajo de Titulación (modalidad Proyecto de Investigación) previa a la obtención del Título de Bióloga. Quito-Ecuador: Universidad Central del Ecuador. 56p.
 -Rosero CA. 2022. Abundancia, actividad microbiana y su relación con los servicios ecosistémicos asociados al suelo en un gradiente de intensidad de uso de la tierra, en la parroquia La Esperanza, provincia de Pichincha-Ecuador. Trabajo de Titulación modalidad Proyecto de Investigación presentado como requisito previo a la obtención del Título de Licenciado en Ciencias Biológicas y Ambientales. Quito-Ecuador: Universidad Central del Ecuador. 84p.
 -Yamamoto Y, Calvopina M, Izurieta R, Villacres L, Kawahara R, Sasaki M, Yamamoto M. 2019. Colistin-resistant *Escherichia coli* with mcr genes in the livestock of rural smallscale farms in Ecuador. *BMC Res Notes.* 12:1-5.