



Impacto de la contaminación acuática por antibióticos en la resistencia de *Pseudomonas aeruginosa*

Impact of aquatic antibiotic pollution on Pseudomonas aeruginosa resistance

Impacto da poluição por antibióticos aquáticos na resistência a Pseudomonas aeruginosa

Juliana Atehortua Usuga^{1*}
Jovanna Acero Godoy²

*Autor de correspondencia: jatehortuau@unicolmayor.edu.co

Recibido: 23 de julio de 2024 Aceptado: 3 de marzo de 2025

Resumen

El uso excesivo e indebido de antibióticos ha dado lugar a la presencia de estas sustancias en los recursos hídricos, desencadenando el desarrollo de resistencia antimicrobiana en bacterias de relevancia en salud pública, como *Pseudomonas aeruginosa*. Este microorganismo patógeno oportunista, reconocido por su resistencia intrínseca, puede causar infecciones en seres humanos, animales y plantas. A nivel mundial, se han detectado diferentes concentraciones de antibióticos en aguas dulces, y según la evidencia incluso en concentraciones subinhibitorias. *Pseudomonas aeruginosa* es capaz de desarrollar mutaciones en genes relacionados con porinas, bombas de expulsión y enzimas; además, tiene la capacidad de adquirir genes de resistencia, generar células persistentes y formar comunidades altamente organizadas, conocidas como biopelículas, que funcionan como escudos protectores. Estas resistencias, tanto adquiridas como adaptativas, son provocadas por la presencia de agentes antimicrobianos, la presión selectiva ejercida y factores ambientales. Es

- 1 Estudiante programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-5693-6146>
- 2 Bacterióloga y Laboratorista Clínico, Esp., MSc., PhD. Docente Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1656-6888>

La Revista Sistemas de Producción Agroecológicos es una revista de acceso abierto revisada por pares. © 2012. Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la Licencia Internacional Creative Commons Attribution 4.0 (CC-BY 4.0), que permite el uso, distribución y reproducción sin restricciones en cualquier medio, siempre que se acredite el autor y la fuente originales.

Consulte <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

OPEN ACCESS



Como citar este artículo / How to cite this article: Atehortua-Usuga, J. y Acero-Godoy, J. (2025). Impacto de la contaminación acuática por antibióticos en la resistencia de *Pseudomonas aeruginosa*. Revista Sistemas de Producción Agroecológicos, 16(1), e-1141. DOI: <https://doi.org/10.22579/22484817.1141>

importante resaltar que la adaptación de *Pseudomonas aeruginosa* a la contaminación de aguas dulces con antibióticos es un tema crucial en la vigilancia y el manejo de la contaminación ambiental. Esto es esencial para prevenir la propagación de la resistencia bacteriana, protegiendo tanto la salud humana como el equilibrio ambiental.

Palabras claves: Ambiente acuático; Genes de resistencia; Resistencia antimicrobiana.

Abstract

The excessive and improper use of antibiotics has led to the presence of these substances in water resources, triggering the development of antimicrobial resistance in bacteria of relevance to public health, such as *Pseudomonas aeruginosa*. This opportunistic pathogen, known for its intrinsic resistance, can cause infections in humans, animals and plants. Worldwide, different concentrations of antibiotics have been detected in fresh water, and according to evidence even in subinhibitory concentrations. *Pseudomonas aeruginosa* is capable of developing mutations in genes related to porins, efflux pumps and enzymes; in addition, it has the ability to acquire resistance genes, generate persistent cells and form highly organized communities, known as biofilms, which function as protective shields. These resistances, both acquired and adaptive, are caused by the presence of antimicrobial agents, the selective pressure exerted and environmental factors. It is important to highlight that the adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* to freshwater contamination with antibiotics is a crucial issue in the surveillance and management of environmental pollution. This is essential to prevent the spread of bacterial resistance, protecting both human health and environmental balance.

Keywords: Antimicrobial resistance; Aquatic environment; Resistance genes.

Resumo

O uso excessivo e indevido de antibióticos tem levado à presença destas substâncias nos recursos hídricos, desencadeando o desenvolvimento de resistência antimicrobiana em bactérias de relevância para a saúde pública, como a *Pseudomonas aeruginosa*. Este microrganismo patogénico oportunista, reconhecido pela sua resistência intrínseca, pode causar infeções em humanos, animais e plantas. Em todo o mundo, foram detectadas diferentes concentrações de antibióticos em águas doces e, de acordo com as evidências, até mesmo em concentrações subinibitórias.

A *Pseudomonas aeruginosa* é capaz de desenvolver mutações em genes relacionados com porinas, bombas de efluxo e enzimas; Além disso, tem a capacidade de adquirir genes de resistência, gerar células persistentes e formar comunidades altamente organizadas, conhecidas como biofilmes, que funcionam como escudos protetores. Estas resistências, tanto adquiridas como adaptativas, são causadas pela presença de agentes antimicrobianos, pela pressão seletiva exercida e por fatores ambientais. É importante destacar que a adaptação de *Pseudomonas aeruginosa* à contaminação de água doce com antibióticos é uma questão crucial na monitorização e gestão da contaminação ambiental. Isto é essencial para prevenir a propagação da resistência bacteriana, protegendo tanto a saúde humana como o equilíbrio ambiental.

Palavras-chave: Ambiente aquático; Genes de resistência; Resistência antimicrobiana.

Introducción

Desde el hallazgo de los antibióticos en el siglo XX, se han salvado millones de vidas, ya que han sido empleados en medicina humana, veterinaria y agricultura. Sin embargo, el uso excesivo e inadecuado de agentes antimicrobianos tales como gliciliclinas, carbapenémicos y polimixinas que han aumentado hasta en 65% en un periodo de 15 años (21,1 mil millones de dosis diarias en el año 2000 a 34,8 mil millones de dosis diarias en el 2015), hace pensar que para el 2030 se producirá un aumento de hasta el 200% si no se hace una debida regulación de estos (Klein et al., 2018). Estos antibióticos y sus subproductos pueden llegar a plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR), donde a pesar de todo el proceso de depuración y saneamiento, logran filtrarse a aguas subterráneas, aguas superficiales, aguas residuales municipales, suelo e incluso a aguas potables y tener efectos negativos a nivel ecológico (Polianciuc et al., 2020). Por lo tanto, esta revisión se centra en *Pseudomonas aeruginosa*, la cual puede presentar mecanismos de resistencia a antibióticos en diferentes ambientes.

Generalidades

P. aeruginosa es un bacilo Gram negativo, móvil con un solo flagelo polar, aerobio, oxidasa positiva, no forma esporas y pertenece a la familia *Pseudomonadaceae*. Es una bacteria patógena oportunista que puede causar infecciones y enfermedades en plantas, animales y humanos, especialmente en personas inmunocomprometidas, ocasionando infecciones tales como neumonía asociada al ventilador, infecciones del tracto urinario (IVU), torrente sanguíneo e infecciones de la piel y los tejidos blandos. Además, es una de las principales causas de infecciones nosocomiales. *P. aeruginosa* demuestra una alta capacidad de adaptación a su entorno, lo que presenta una significativa complicación a la hora de su abordaje terapéutico y su erradicación, ya que la aparición de resistencia antimicrobiana es común (Diggle y Whiteley, 2020; Qin et al., 2022).

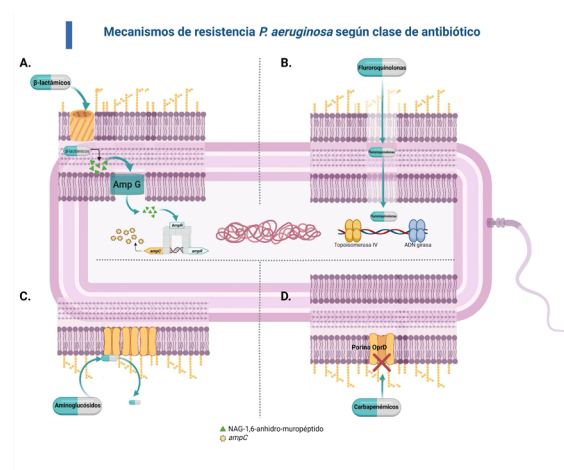
P. aeruginosa es una bacteria naturalmente resistente a varios antibióticos, lo cual dificulta su tratamiento. Sin embargo, los antibióticos empleados en su tratamiento incluyen *betalactámicos* como: cefepime (FEP), piperacilina/tazobactam (PIP-TZB), ceftazidima (CAZ), aztreonam (ATM) y

carbapenémicos como: meropenem (MEM) e imipenem (IPM); aminoglucósidos como: gentamicina (GEN), tobramicina (TOB) y amikacina (AMK) y quinolonas como ciprofloxacino (CIP) y levofloxacino (LVX) (Papadimitriou et al., 2022). Dada la amplia gama de antibióticos utilizados para su tratamiento, se ha observado que *P. aeruginosa* muestra distintos mecanismos de resistencia según el tipo de antibiótico (figura 1).

El surgimiento de *Pseudomonas aeruginosa* resistente, se encuentra influenciado por la duración del período de exposición a la sustancia antimicrobiana, la densidad de las bacterias y de un medio enriquecido con nutrientes, por lo tanto, la exposición a estas dosis subterapéuticas conduce potencialmente a crear condiciones adecuadas para la transferencia de genes de resistencia (Mahmood y Hassan, 2019).

La resistencia del microorganismo se da a través de múltiples mecanismos, tales como la exclusión del antibiótico por la membrana celular, modificaciones intracelulares, desactivación del antibiótico, reducción de la sensibilidad del objetivo celular, secuestro intracelular, entre otros. Estos mecanismos pueden ser intrínsecos, de ocurrencia natural y predecible, o extrínsecos/adquiridos, los cuales son el resultado de una evolución impredecible de mutaciones/cambios genéticos. La transferencia horizontal de genes encargados de procesos como la conjugación por plásmidos y transposones bacterianos, también puede ser responsable de la adquisición de resistencia a los antibióticos (Marti et al., 2014).

Figura 1. Principales mecanismos de resistencia de *P. aeruginosa* según las clases de antibióticos.



NOTA: A). Betalactámicos: hiperextensión cromosómica de AmpC. En presencia de un antibiótico β -lactámico, se inhiben ciertas PBP3, lo que causa un desequilibrio que incrementa la liberación de NAG-1,6-anhidro-muropeptidos transportados por la permeasa AmpG. Estas elevadas concentraciones saturan AmpD, lo que induce un cambio conformacional en el regulador AmpR. Esta alteración resulta en una superproducción de AmpC, que se exporta al periplasma donde degrada el β -lactámico. B). Fluoroquinolonas: interacción con ADN girasa y expresión de topoisomerasa IV. Las moléculas de fluoroquinolona atraviesan la membrana externa, el peptidoglicano, el espacio periplásmico y la membrana citoplasmática, interactuando en el citoplasma con los objetivos de la ADN girasa y la topoisomerasa IV (Topo IV) cuando estas enzimas forman complejos con el ADN. C). Aminoglucósidos: alteración de la permeabilidad. modifica la estructura de las porinas existentes para que sean menos permeables e impida la unión del aminoglucósido a la subunidad 30S de los ribosomas. D). Carbapenémicos: pérdida de porinas OprD. Es una proteína porina específica para aminoácidos básicos. Aunque la regulación de OprD aún no está completamente comprendida, se ha asociado con mutaciones que causan una disminución en su expresión, con sustituciones de aminoácidos y con la acumulación de estas proteínas en vesículas de membrana dentro de biopelículas (Pachori et al., 2019; Torrens et al., 2019; Langendonk et al., 2021).

Mecanismos de resistencia adquirida

La adquisición de genes de resistencia o mutaciones en genes que codifican porinas, bombas de expulsión, proteínas de unión a penicilina (PBP) y β -lactamasas cromosómicas, son una modalidad común de generación de resistencia bacteriana. Como su nombre lo indica, se obtiene por transferencia horizontal de genes y mutaciones de genes cromosómicos. El resultado de esto permite resistencia contra varias clases de antibióticos como los aminoglucósidos, las fluoroquinolonas. (FQ) y los β -lactámicos (Pachori et al., 2019).

Ejemplo: La resistencia a las FQ (fluoroquinolonas) es dada por mutaciones cromosómicas en los genes que codifican las subunidades de las enzimas ADN girasa (gyrA, gyrB) y topoisomerasa IV (parC-parE).

Resistencia adaptativa

Es una resistencia inducida por la presencia de agentes antimicrobianos y factores ambientales

como el pH, la temperatura, formación de biopelículas y el oxígeno. Existen genes reguladores que ejercen control sobre la expresión de otros genes y están involucrados tanto en la resistencia antibiótica como en la virulencia. Dependiendo del tipo de gen, pueden tener un papel importante en la resistencia intrínseca, adquirida o adaptativa (Azam y Khan, 2019) (tabla 1).

Tabla 1. Genes reguladores implicados en resistencia antimicrobiana de *P. aeruginosa*.

Gen regulador	Descripción	Función	Ref.
AmpR	Regulador global	Afecta la expresión de múltiples genes (p. ej., ampC, lasA, lasB, lasI, rhlR, y poxB)	(Li y Nikaido, 2009)
BrlR (brlR)	Regulador del locus de resistencia al biofilm	Tolerancia al peróxido de hidrógeno; tiene un papel en la resistencia a los antimicrobianos activación génica	(Chambers et al., 2014)
Crc (crc)	Control de la represión catabólica, global regulador	Control del metabolismo de la fuente de carbono y la represión catabólica, el sistema de secreción, la motilidad, la resistencia a los antibióticos.	(Linares et al., 2010)
PsrA	Regulador transcripcional tipo III	Formación de biopelículas, swarming, resistencia intrínseca y adaptativa	(Breidenstein et al., 2011)
CbrAB	Regulador de respuesta	Resistencia adquirida, swarming y desarrollo de biopelículas.	
PA0756-PA0757	Codifica la respuesta de dos componentes regulador	Resistencia frente a tobramicina y gentamicina.	
PhoPQ	Sistema regulatorio de dos componentes	Swarming, formación de biopelículas, espasmos y resistencia a péptidos antimicrobianos bajo bajas concentraciones de Mg ²⁺	
Lon	Proteasa dependiente de ATP	Formación de biopelículas, swarming, resistencia intrínseca y adaptativa	
PmrAB	Sistema regulatorio de dos componentes	Participa en la resistencia a péptidos antimicrobianos catiónicos, incluyendo polimixinas.	(Skiada et al., 2011)

En la revisión de la literatura, se identificó la presencia de diversos antibióticos empleados en el tratamiento de infecciones causadas por *P. aeruginosa* en ambientes de agua dulce (tabla 2).

Tabla 2. Presencia de antibióticos en diferentes fuentes hídricas alrededor del mundo

Lugar geográfico	Ambiente acuático	Antibiótico	[ng/L]	REF
Arabia Saudita	S/E	CIP	127	(Mahmood y Hassan, 2019)
Argentina	S/E	LVX	140	(Valdés et al., 2021)
Brasil	Rio	CIP	570	(Jank et al., 2014)
	Rio y arroyo	CIP	119	(Kolpin et al., 2002)
	S/E	CIP	119	(Locatelli et al., 2011)
	Arroyo	CIP	2.42	
China	S/E	CFL	0,4	(Yu et al., 2016)
	S/E	FOX	50	
Colombia	Efluente	CIP	690	(Martínez-Alcalá et al., 2020)
	Afluente	CIP	1.000	
	Residual ambiental	CIP	6.900	(Serna-Galvis et al., 2021)
	Residual hospitalaria	CIP	20.000	
Costa rica	Muestras de agua superficial	CIP	740	(Spongberg et al., 2011)
España	Rio	CIP	13.000	(Rodríguez-Mozaz et al., 2015)
	Agua tratada	CIP	147	(Gros et al., 2013)
Francia	S/E	CIP	S/E	(Viana et al., 2021)
Irán	S/E	CIP	249	(Mirzaei et al., 2018)
Italia	Rio	CIP	147	(Zuccato et al., 2010)
	Agua tratada	CIP	1.100	(Verlicchi et al., 2012)
Kenia	Agua dulce	LVX	40	(Madikizela et al., 2017)
México	Agua tratada	CIP	65,8	(Estrada-Arriaga et al., 2016)
Polonia	S/E	Aminoglucosidos	< 10,000	(Gbylik-Sikorska et al., 2014)
Portugal	Rio	CIP	7,1	(Reis-Santos et al., 2018)
Republica checa	Agua tratada	CIP	18	(Golovko et al., 2014)
Sudáfrica	Agua superficial	CIP	15	(Agunbiade y Moodley, 2014)
	S/E	CIP	14	(Danner et al., 2019)
Suecia	Agua tratada	CIP	31	(Zorita et al., 2009)
Túnez	Agua superficial	AMK	2	(Tahrani et al., 2016)
Inglaterra	Agua tratada	CIP	147	(Comber et al., 2018)
Vietnam	Lago	MEM	7	(Tran et al., 2019)

Nota: Ciprofloxacina (CIP), amikacina (AMK), meropenem (MEM), levofloxacino (LVX), sin especificar (S/E)

Formación de biopelículas en agua por *P. aeruginosa* y resistencia a los antibióticos

Aunque las pequeñas cantidades de antibióticos pueden no ser suficientes para eliminar a todas las bacterias, la exposición continua de *P. aeruginosa* a antibióticos en diversos ambientes desfavorables como pH, temperatura, oxígeno, nutrientes entre otros, genera un estímulo que favorece la presión de selección, desencadenando la resistencia adaptativa a través de cambios transitorios en la expresión de genes y/o proteínas (Motta et al., 2015).

En los ecosistemas acuáticos naturales, las bacterias como *P. aeruginosa* se organizan en biopelículas, una forma común de crecimiento en la naturaleza. Las biopelículas son agregados de células bacterianas que viven en una comunidad altamente estructurada y organizada, formada por proteínas y enzimas que generan señales y anclajes entre célula y célula. Factores ambientales, como la luz, temperatura, humedad, oxígeno y agua, influyen en su formación. Investigaciones recientes sugieren que las biopelículas pueden contribuir a la resistencia antibiótica debido a la alta densidad celular, la proximidad y la acumulación de elementos genéticos móviles (MGE) (Hoyle y Costerton, 1991; Guénard et al., 2014).

P. aeruginosa tiene una gran capacidad de adquirir plasticidad genómica, es decir, capacidad de modificar su material genético como respuesta a estímulos ambientales. Esto se logra a través de la transferencia horizontal de genes, alteraciones genómicas dadas por transposones y la versatilidad inherente del genoma permite un cambio constante para sobrevivir a condiciones desfavorables como la presencia de antibióticos en el agua (Roulová et al., 2022).

Las biopelículas suelen estar conformadas por varias especies microbianas y se ha documentado que poseen una resistencia a los antibióticos que puede ser hasta 1000 veces superior en comparación con sus contrapartes planctónicas (Žiemytė

et al., 2021). Esta relación puede asociarse principalmente a los siguientes mecanismos:

1. Matriz de exopolisacáridos: Es la base estructural y el cuerpo de la biopelícula, forma una barrera contra penetración de los antibióticos. Está compuesta por sustancias poliméricas extracelulares (EPS) codificadas por numerosos genes que se localizan en tres operones independientes denominados: *algU*, *psl* y *pel*. Estas sustancias incluyen ADN extracelular (eDNA), proteínas, lípidos, y en conjunto conforman el 90% de la biopelícula (Ghafoor et al., 2011).

El Psl es un polisacárido rico en manosa y galactosa, que está relacionado con la formación de biopelículas maduras. Se produce durante el crecimiento planctónico favoreciendo la formación de microcolonias. Pel es un polímero con características similares a la celulosa, es rico en glucosa y es fundamental para la formación de la biopelícula cuando está en la interfase aire-líquido. También juega un papel importante en la interacción intercelular (Ma et al., 2009). Se ha demostrado en estudios previos que Psl y Pel participan en la unión inicial y final de las células respectivamente. Ambos son cruciales para la integridad de la biopelícula (Jackson et al., 2004; Overhage et al., 2005; Campisano et al., 2006; Colvin et al. 2011).

El DNA extracelular es un componente fundamental de la matriz de la biopelícula que se produce a través de un proceso de lisis celular y que cambia según la madurez y el entorno que lo rodea. Es liberado e induce la agregación bacteriana al interactuar con el Ca²⁺ extracelular (Whitchurch et al., 2002).

2. El lento crecimiento: Las células bacterianas que crecen en la superficie de las biopelículas son metabólicamente más activas, mientras que las células internas crecen más lentamente (Hoyle y Costerton, 1991). El

estado de inmovilidad en el que las bacterias se encuentran al producir biopelículas conlleva cambios fenotípicos significativos, como una notable elevación en la expresión génica de las bombas de expulsión, alteraciones en la síntesis del peptidoglicano y de algunos componentes de la pared celular (Karruli et al., 2023). Estos cambios han sido comprobados mediante pruebas de concentración mínima inhibitoria (CIM), las cuales revelan un aumento de entre 10 y 1000 veces en la resistencia observada. (Hoyle y Costerton, 1991; Guénard et al., 2014).

3. Los microambientes dentro de las biopelículas pueden interferir con la acción de los antibióticos (Folliero et al., 2021), mejorando la patogenicidad de *P. aeruginosa*.

Interacción de los mecanismos de resistencia de *P. aeruginosa* en presencia de antibióticos en medio acuoso

Permeabilidad de la membrana externa

P. aeruginosa posee una membrana externa compuesta principalmente por una bicapa de moléculas de fosfolípidos con porinas insertadas y lipopolisacáridos, esta membrana es responsable de la captura de sustancias extracelulares con ayuda de las porinas que actúan como canales de transporte selectivo permitiendo el paso de moléculas pequeñas. La entrada de pequeñas cantidades de antibióticos puede no ser suficiente para eliminar la bacteria, pero permite que sobrevivan las células bacterianas resistentes o que tengan la capacidad de desarrollar resistencia (Qin et al., 2022).

P. aeruginosa posee dos porinas fundamentales para adquirir resistencia a antibióticos presentes en agua dulce contaminada con antibióticos. Una de ellas es la porina no específica OprF, que regula la concentración intracelular de c-di-GMP, promoviendo la función de formación de biopelícula para proteger la bacteria de la penetración de antibió-

ticos al interior (Song et al., 2018); y las porinas de salida o porinas de eflujo (OprM, OprN y OprJ) ayudan a la salida activa de varios antibióticos, como tetraciclina, norfloxacin y betalactámicos (Bolívar et al., 2021).

Bombas eflujo

Las bombas eflujo son sistemas de transporte presentes en la membrana que les permite expulsar compuestos tóxicos o antibióticos que lograron ingresar a la célula bacteriana. La familia de bombas de eflujo RND (resistance-nodulation-cell division) tiene una fuerte correlación con la resistencia a los antibióticos. Esta familia puede incluir múltiples sistemas de bombas de eflujo, cada uno con especificidad para diferentes clases de antibióticos.

Complejo MexAB-OprM: crucial para desarrollar resistencia a los carbapenémicos.

Complejo MexCD-OprJ: relacionada con una mayor resistencia de la mayoría de las cepas clínicas a la ciprofloxacina, la cefepima y el cloranfenicol.

Complejo MexEF-OprN y complejo MexXY-OprM: Permite resistencia a los aminoglucósidos, las fluoroquinolonas y las cefalosporinas (Guénard et al., 2014)

Estas bombas desempeñan un papel clave en la adquisición de resistencia intrínseca a los antibióticos cuando *P. aeruginosa* se encuentra en un entorno acuoso contaminado con estos compuestos, dado que, aunque son dosis subletales, se pueden activar y aumentar la expresión con el fin de bombear al exterior las moléculas de antibiótico disminuyendo la concentración intracelular y evitar que ejerzan un efecto antimicrobiano (Jeannot et al., 2008). Adicionalmente, estas biopelículas presentan una amplia variedad de sustratos, lo que implica su capacidad para contribuir a la resistencia contra un extenso repertorio de agentes antimicrobianos clasificándose, por ende, como sistemas multidroga inespecíficos (Piddock, 2006).

Enzimas inactivadoras

P. aeruginosa tiene la capacidad de producir enzimas, conocidas como hidrolasas, que pueden inactivar estos antibióticos degradando sus estructuras químicas o modificando los grupos amino y los grupos glucosídicos. Este proceso de inactivación de los antibióticos por parte de las enzimas bacterianas puede llevar al desarrollo de resistencia antibiótica (Poole, 2005; Rafiee et al., 2014).

P. aeruginosa produce β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), lo que permite resistencia a varios antibióticos, como penicilina, cefalosporina y aztreonam. Esta capacidad de producción de enzimas no se ve alterada al estar en entornos acuáticos contaminados con antibióticos (Poirel et al., 2019).

Células persistentes en la resistencia

Las células persistentes se caracterizan por su capacidad de entrar en un estado de latencia o dormancia, es decir que está metabólicamente inactiva: no crece, no hay transcripción y traducción. Se forma bajo condiciones adversas como exposición a antibióticos, privación de nutrientes y otros factores estresantes (Kwan et al. 2013). Esto las protege de los efectos de los antibióticos, ya que las bacterias en estado de latencia son menos susceptibles a los mecanismos de acción de los medicamentos antimicrobianos. No sufren cambios genéticos, por lo que proliferan luego de la eliminación del fármaco como células susceptibles (Kwan et al., 2013; Patel et al., 2022).

Las biopelículas aumentan la formación de células persistentes. Se demostró en un estudio de Patel et al. (2022) que la exposición a ciprofloxacina promueve la formación de células persistentes por la activación del sistema toxinas-antitoxinas (TA) RelA/SpoT (involucrado en la respuesta al estrés nutricional) y HigB/HigA (regulador del crecimiento y la supervivencia) en la biopelícula. No hay total claridad sobre los mecanismos de formación de las células persistentes, pero se ha sugerido que los sistemas TA son importantes. Las toxinas

tienen un efecto sobre el material genético, los ribosomas y el ADN girasa, provocan respuestas bactericidas y bacteriostáticas al inhibir la síntesis de proteínas, la síntesis de la pared celular y la replicación del DNA, mientras que la antitoxina es una secuencia de RNA que se une a la toxina bloqueando su actividad (Yamaguchi et al., 2011; Soares et al., 2019).

Se ha demostrado la formación de células persistentes con expresión de los genes del sistema TA en las biopelículas de *P. aeruginosa* tras la exposición de ciprofloxacina y colistina (Zadeh et al., 2022). Dentro de las biopelículas, las bacterias que residen en la parte más interna tienen una actividad metabólica más baja debido a la falta de oxígeno y nutrientes, que son absorbidos principalmente por las bacterias que se encuentran en la parte externa de la biopelícula. En consecuencia, de la baja síntesis de ADN y proteínas, se inactiva el objetivo de las quinolonas y los aminoglucósidos (Ciofu y Tolker, 2019).

El bajo metabolismo puede provocar la formación de células persistentes, que son menos susceptibles a los antibióticos. El ambiente hipóxico dentro de la biopelícula funciona como mecanismo de tolerancia, ya que impide las especies reactivas del oxígeno (ROS), necesarias para desarrollar la acción de antibióticos como la tobramicina, que induce estrés oxidativo en las bacterias al interferir con la síntesis de proteínas. Así mismo, el ciprofloxacino contribuye al estrés oxidativo y al daño celular (Borriello et al., 2004; Lewis, 2010).

Varios estudios han informado sobre la formación de células persistentes de *P. aeruginosa* después de la exposición a ceftazidima, gentamicina y ciprofloxacina. Esta persistencia se evidencia por la disminución de la biomasa externa de la biopelícula y la observación de células en el interior de la biopelícula, atribuida a la lenta difusión de los antibióticos a través de la biomasa y a la baja actividad metabólica interna (Viducic et al., 2006; Marr et al., 2007; Gómez et al., 2019).

Evidencia de presencia de *P. aeruginosa* resistente en ambientes acuáticos

En todo el mundo se ha evidenciado el problema de la presencia de bacterias resistentes a los antibióticos en fuentes de agua dulce (Ash et al., 2002a). D'Costa et al. (2011) demostraron en un estudio que el suelo y el agua son reservorios de genes de resistencia.

En un estudio realizado en Estonia, se utilizaron seis antibióticos (ampicilina, meropenem, norfloxacin, cloranfenicol, kanamicina y tetraciclina) en tres concentraciones diferentes para investigar la resistencia de bacterias aisladas de aguas superficiales del río Emajõgi. A partir del gen 16S rRNA, se encontró que más de la mitad (58%) de los aislamientos de γ -proteobacterias fueron cepas de *Pseudomonas*. Los resultados revelaron una resistencia significativa de *Pseudomonas* a concentraciones de ampicilina (100 $\mu\text{g/mL}$), cloranfenicol (5 $\mu\text{g/mL}$), meropenem (0,3 $\mu\text{g/mL}$) y tetraciclina (5 $\mu\text{g/mL}$). Esto sugiere que la resistencia adquirida es responsable de las diferencias variables en la resistencia entre los grupos filogenéticos (Voolaid et al., 2012).

En un estudio realizado en ríos de Estados Unidos, se obtuvo que la mayoría (>80 %) de los organismos resistentes a ceftazidima y resistentes a ceftazidima fueron identificados como *Pseudomonas*. Esta resistencia sugiere que estos microorganismos pueden producir β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) (Ash et al., 2002; Espinoza y Esparza, 2021).

En países como China y Vietnam, se encontró que dosis bajas de tobramicina en agua (50–1000 $\mu\text{g/L}$) promovieron la formación de biopelículas en *P. aeruginosa*. Mediante electroporación, se introdujo el plásmido de gen mutante PA2818 (arr), modulador de resistencia a los aminoglucósidos que también regulan la adhesividad de la superficie celular (Danner et al., 2019).

Recomendaciones

En resumen, la adaptación de *P. aeruginosa* a la contaminación de agua dulce por antibióticos es un fenómeno preocupante y respaldado por evidencia sólida. La presencia de antibióticos en el agua dulce ha demostrado ser un factor clave en el desarrollo de la resistencia antimicrobiana en esta bacteria. Este hallazgo subraya la importancia crítica de la vigilancia y la gestión de la contaminación ambiental por antibióticos, así como la necesidad de implementar medidas eficaces para prevenir la propagación de la resistencia bacteriana en los ecosistemas acuáticos, protegiendo así tanto la salud humana como la del medio ambiente. Comprender la influencia de los fármacos en el medio ambiente adquiere una importancia crucial tanto para el ecosistema como para la salud humana.

La aparición acelerada de resistencia a los antibióticos, fenómeno potencialmente más peligroso, se manifiesta de manera destacada en naciones con un elevado consumo de estos agentes. Abordar este desafío requiere la implementación de políticas tanto a nivel global como nacional que frenen el mal uso y la sobreexposición a los antimicrobianos. Deben ser partícipes los consumidores, los farmacéuticos, personal de salud y las autoridades. En este sentido, es particularmente importante establecer medidas reguladoras para mitigar los riesgos asociados.

Además, la investigación futura debe orientarse hacia la búsqueda de métodos eficientes para la completa degradación de los antibióticos y otros fármacos, contribuyendo así a la preservación de la salud ambiental y humana a largo plazo. La determinación de concentraciones críticas de sustancias tóxicas, con un enfoque especial en antibióticos, adquiere una importancia destacada. Establecer niveles seguros es imperativo para evitar impactos adversos en el entorno natural y, por ende, salvaguardar la salud humana.

Referencias

1. Agunbiade, F. O. y Moodley, B. (2014). Pharmaceuticals as emerging organic contaminants in Umgeni River water system, Kwa-Zulu-Natal, South Africa. *Environmental monitoring and assessment*, 186, 7273-7291. <https://doi.org/10.1007/s10661-014-3926-z>
2. Ash, R. J., Mauck, B. y Morgan, M. (2002). Antibiotic Resistance of Gram-Negative Bacteria in Rivers, United States. *Emerging Infectious Diseases*, 8(7), 713-716. <https://doi.org/10.3201/eid0807.010264>
3. Azam, M. W. y Asad, U. K. (2019). Updates on the Pathogenicity Status of *Pseudomonas Aeruginosa*. *Drug Discovery Today*, 24(1), 350-359. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2018.07.003>
4. Bolivar-Vargas, A. F., Torres-Caycedo, M. I. y Sánchez-Neira, Y. (2021). Biofilms de *Pseudomonas Aeruginosa* como mecanismos de resistencia y tolerancia a antibióticos. *Revista de La Facultad de Ciencias de La Salud Universidad Del Cauca*, 23(2), 47-57. <https://doi.org/10.47373/rfcs.2021.v23.1780>
5. Borriello, G., Werner, E., Roe, F., Kim, A. M., Ehrlich, G. D. y Stewart, P. S. (2004). Oxygen Limitation Contributes to Antibiotic Tolerance of *Pseudomonas Aeruginosa* in Biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(7), 2659-2664. <https://doi.org/10.1128/aac.48.7.2659-2664.2004>
6. Breidenstein, E. B., de la Fuente-Núñez, C. y Hancock, R. W. (2011). *Pseudomonas aeruginosa*: all roads lead to resistance. *Trends in Microbiology*, 19(8), 419-26. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2011.04.005>
7. Campisano, A., Schroeder, C., Schemione, M., Overhage, J. y Rehm, B. H. (2006). PsID is a secreted protein required for biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(4), 3066-3068. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.4.3066-3068.2006>
8. Chambers, J. R., Liao, J., Schurr, M. J. y Sauer, K. (2014). BrIR from *Pseudomonas aeruginosa* is ac-di-GMP-responsive transcription factor. *Molecular Microbiology*, 92(3), 471-487. <https://doi.org/10.1111/mmi.12562>
9. Ciofu, O. Y Tolker-Nielsen, N. (2019). Tolerance and resistance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to antimicrobial agents—how *P. aeruginosa* can escape antibiotics. *Frontiers in Microbiology*, 10, 913. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00913>
10. Comber, S., Gardner, M., Sörme, P., Leverett, D. y Ellor, B. (2018). Active pharmaceutical ingredients entering the aquatic environment from wastewater treatment works: a cause for concern?. *Science of the total environment*, 613, 538-547. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.101>
11. Colvin, K. M., Gordon, V. D., Murakami, K., Borlee, B. R., Wozniak, D. J., Wong, G. C. y Parsek, M. R. (2011). The pel polysaccharide can serve a structural and protective role in the biofilm matrix of *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS Pathogens*, 7(1), e1001264. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001264>
12. Danner, M. C., Robertson, A., Behrends, V. y Reiss, J. (2019). Antibiotic pollution in surface fresh waters: occurrence and effects. *Science of The Total Environment*, 664, 793-804. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.406>

13. D'Costa, V. M., King, C. E., Kalan, L., Morar, M., Sung, W. W., Schwarz, C., Froese, D., Zazula, G., Calmels, F., Debruyne, R., Golding, G. B., Poinar, H. N. y Wright, G. D. (2011). Antibiotic resistance is ancient. *Nature*, 477(7365), 457-461. <https://doi.org/10.1038/nature10388>
14. Diggle, S. P. y Whiteley, M. (2020). Microbe profile: *Pseudomonas aeruginosa*: opportunistic pathogen and lab rat. *Microbiology*, 166(1), 30-33. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000860>
15. Espinoza-Pesantez, D. y Esparza-Sanchez, G. (2021). Resistencia enzimática en *Pseudomonas aeruginosa*, aspectos clínicos y de laboratorio. *Revista Chilena de Infectología*, 38(1), 69-80. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182021000100069>
16. Estrada-Arriaga, E. B., Cortés-Muñoz, J. E., González-Herrera, A., Calderón-Mólgora, C. G., de Lourdes Rivera-Huerta, M., Ramírez-Camperos, E., Montellano-Palacios, L., Gelover-Santiago, S. L., Pérez-Castrejón, S., Cardoso-Vigueros, L., Martín-Domínguez, A. y García-Sánchez, L. (2016). Assessment of full-scale biological nutrient removal systems upgraded with physico-chemical processes for the removal of emerging pollutants present in wastewaters from Mexico. *Science of the Total Environment*, 571, 1172-1182. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.118>
17. Folliero, V., Franci, G., Dell'Annunziata, F., Giugliano, R., Foglia, F., Sperlongano, R., De Filippis, A., Finamore, E. y Galdiero, M. (2021). Evaluation of antibiotic resistance and biofilm production among clinical strain isolated from medical devices. *International Journal of Microbiology*, 2021(1), 9033278. <https://doi.org/10.1155/2021/9033278>
18. Gbylik-Sikorska, M., Posyniak, A., Mitrowska, K., Gajda, A., Bładek, T., Śniegocki, T. y Żmudzki, J. (2014). Occurrence of veterinary antibiotics and chemotherapeutics in fresh water, sediment, and fish of the rivers and lakes in Poland. *Journal of Veterinary Research*, 58(3), 399-404. <https://doi.org/10.2478/bvip-2014-0062>
19. Ghafoor, A., Hay, I. D., y Rehm, B. H. (2011). Role of exopolysaccharides in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and architecture. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(15), 5238-5246. <https://doi.org/10.1128/AEM.00637-11>
20. Golovko, O., Kumar, V., Fedorova, G., Randak, T. y Grabic, R. (2014). Seasonal changes in antibiotics, antidepressants/psychiatric drugs, antihistamines and lipid regulators in a wastewater treatment plant. *Chemosphere*, 111, 418-426. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.03.132>
21. Gómez-Junyent, J., Benavent, E., Sierra, Y., El Haj, C., Soldevila, L., Torrejón, B., Raul Rigo-Bonnin, R., Tubau, F., Ariza, J. y Murillo, O. (2019). Efficacy of ceftolozane/tazobactam, alone and in combination with colistin, against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in an in vitro biofilm pharmacodynamic model. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 53(5), 612-619. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2019.01.010>
22. Gros, M., Rodríguez-Mozaz, S. y Barceló, D. (2013). Rapid analysis of multiclass antibiotic residues and some of their metabolites in hospital, urban wastewater and river water by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole-linear ion trap tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1292, 173-188. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.12.072>

23. Guénard, S., Muller, C., Monlezun, L., Benas, P., Broutin, I., Jeannot, K. y Plésiat, P. (2014). Multiple mutations lead to MexXY-OprM-dependent aminoglycoside resistance in clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(1), 221-28. <https://doi.org/10.1128/aac.01252-13>
24. Hoyle, B. D. y Costerton, J. W. (1991). Bacterial Resistance to Antibiotics: The Role of Biofilms. *Progress in Drug Research*, 37, 91-105. https://doi.org/10.1007/978-3-0348-7139-6_2.
25. Jackson, K. D., Starkey, M., Kremer, S., Parsek, M. R. y Wozniak, D. J. (2004). Identification of psl, a locus encoding a potential exopolysaccharide that is essential for *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 biofilm formation. *Journal of Bacteriology*, 186(14), 4466-4475. <https://doi.org/10.1128/JB.186.14.4466-4475.2004>
26. Jank, L., Hoff, R. B., Costa, F. J. D. y Pizzolato, T. M. (2014). Simultaneous determination of eight antibiotics from distinct classes in surface and wastewater samples by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography-electrospray ionisation mass spectrometry. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 94(10), 1013-1037. <https://doi.org/10.1080/03067319.2014.914184>
27. Jeannot, K., Elsen, S., Köhler, T., Attree, I., van Delden, C. y Plésiat, P. (2008). Resistance and virulence of *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains overproducing the mexcdoprj efflux pump. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52(7), 2455-2462. <https://doi.org/10.1128/aac.01107-07>
28. Karruli, A., Catalini, C., D'Amore, C., Foglia, F., Mari, F., Harxhi, A., Galdiero, M., y Durante-Mangoni, E. (2023). Evidence-based treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections: a critical reappraisal. *Antibiotics*, 12(2), 399. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020399>
29. Klein, E. Y., Van Boeckel, T. P., Martinez, E. M., Pant, S., Gandra, S., Levin, S. A., Goossens, H. y Laxminarayan, R. (2018). Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(15), E3463-E3470. <https://doi.org/10.1073/pnas.1717295115>
30. Kolpin, D. W., Furlong, E. T., Meyer, M. T., Thurman, E. M., Zaugg, S. D., Barber, L. B. y Buxton, H. T. (2002). Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999– 2000: A national reconnaissance. *Environmental science & technology*, 36(6), 1202-1211. <https://doi.org/10.1021/es011055j>
31. Kwan, B. W., Valenta, J. A., Benedik, M. J. y Wood, T. K. (2013). Arrested protein synthesis increases persister-like cell formation. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(3), 1468-1473. <https://doi.org/10.1128/AAC.02135-12>
32. Langendonk, R. F., Neill, D. R. y Fothergill, J. L. (2021). The building blocks of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: implications for current resistance-breaking therapies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, 665759. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.665759>
33. Lewis, K. (2010). Persister cells. *Annual Review of Microbiology*, 64(1), 357-372. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.112408.134306>

34. Li, X. Z. y Nikaido, H. (2009). Efflux-mediated drug resistance in bacteria: an update. *Drugs*, 69(12), 1555-1623. <https://doi.org/10.2165/11317030-000000000-00000>
35. Linares, J. F., Moreno, R., Fajardo, A., Martínez-Solano, L., Escalante, R., Rojo, F. y Martínez, J. L. (2010). The global regulator Crc modulates metabolism, susceptibility to antibiotics and virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. *Environmental Microbiology*, 12(12), 3196-3212. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02292.x>
36. Locatelli, M. A. F., Sodré, F. F. y Jardim, W. F. (2011). Determination of antibiotics in Brazilian surface waters using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 60, 385-393. <https://doi.org/10.1007/s00244-010-9550-1>
37. Ma, L., Conover, M., Lu, H., Parsek, M. R., Bayles, K. y Wozniak, D. J. (2009). Assembly and development of the *Pseudomonas aeruginosa* biofilm matrix. *PLoS Pathogens*, 5(3), e1000354. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000354>
38. Madikizela, L. M., Tavengwa, N. T. y Chimuka, L. (2017). Status of pharmaceuticals in African water bodies: Occurrence, removal and analytical methods. *Journal of environmental management*, 193, 211-220. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.02.022>
39. Mahmood, A. R., Al-Haideri, H. H. y Hassan, F. M. (2019). Detection of antibiotics in drinking water treatment plants in baghdad city, iraq. *Advances in Public Health*, 2019(1), 7851354. <https://doi.org/10.1155/2019/7851354>
40. Marr, A. K., Overhage, J., Bains, M. Y Hancock, R. E. (2007). The Lon protease of *Pseudomonas aeruginosa* is induced by aminoglycosides and is involved in bio-film formation and motility. *Microbiology*, 153(2), 474-482. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2006/002519-0>
41. Marti, E., Variatza, E. y Balcazar, J. L. (2014). The role of aquatic ecosystems as reservoirs of antibiotic resistance. *Trends in Microbiology*, 22(1), 36-41. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2013.11.001>
42. Martínez-Alcalá, I., Soto, J. y Lahora, A. (2020). Antibióticos como contaminantes emergentes. Riesgo ecotoxicológico y control en aguas residuales y depuradas. *Ecosistemas*, 29(3), 2070-2070. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2070>
43. Motta, S. S., Cluzel, P. y Aldana, M. (2015). Adaptive resistance in bacteria requires epigenetic inheritance, genetic noise, and cost of efflux pumps. *PloS one*, 10(3), e0118464. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118464>
44. Mirzaei, R., Yunesian, M., Nasser, S., Gholami, M., Jalilzadeh, E., Shoeibi, S. y Mesdaghi, A. (2018). Occurrence and fate of most prescribed antibiotics in different water environments of Tehran, Iran. *Science of the total environment*, 619, 446-459. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.272>
45. Overhage, J., Schemionek, M., Webb, J. S. y Rehm, B. H. (2005). Expression of the *psl* operon in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 biofilms: *PslA* performs an essential function in biofilm formation. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(8), 4407-4413. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.8.4407-4413.2005>

46. Pachori, P., Gothwal, R. y Gandhi, P. (2019). Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit; a critical review. *Genes & Diseases*, 6(2), 109-119. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2019.04.001>
47. Papadimitriou-Olivgeris, M., Jacot, D. y Guery, B. (2022). *How to Manage Pseudomonas Aeruginosa Infections*. En *Pseudomonas aeruginosa: Biology, Pathogenesis and Control Strategies* (pp. 425-445). Cham: Springer International Publishing.
48. Patel, H., Buchad, H. y Gajjar, D. (2022). *Pseudomonas aeruginosa* persister cell formation upon antibiotic exposure in planktonic and biofilm state. *Scientific Reports*, 12(1), 16151. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-20323-3>
49. Piddock, L. J. V. (2006). Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pumps in bacteria. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(2), 382-402. <https://doi.org/10.1128/CMR.19.2.382-402.2006>
50. Poirrel, L., Ortiz De La Rosa, J. M., Kieffer, N., Dubois, V., Jayol, A. y Nordmann, P. (2019). Acquisition of extended-spectrum β -lactamase GES-6 leading to resistance to ceftolozane-tazobactam combination in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 63(1), e01809-18. <https://doi.org/10.1128/AAC.01809-18>
51. Polianciuc, S. I., Gurzău, A. E., Kiss, B., Ștefan, M. G. y Loghin, F. (2020). Antibiotics in the environment: causes and consequences. *Medicine and Pharmacy Reports*, 93(3), 231. <https://doi.org/10.15386/mpr-1742>
52. Poole, K. (2005). Aminoglycoside resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(2), 479-487. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.2.479-487.2005>
53. Qin, S., Xiao, W., Zhou, C., Pu, Q., Deng, X., Lan, L., Liang, H., Song, X. y Wu, M. (2022). *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), 199. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01056-1>
54. Rafiee, R., Eftekhari, F., Tabatabaei, S. A. y Tehrani, D. M. (2014). Prevalence of extended-spectrum and metallo β -lactamase production in AmpC β -lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates from burns. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 7(9), e16436. <https://doi.org/10.5812/jjm.16436>
55. Reis-Santos, P., Pais, M., Duarte, B., Caçador, I., Freitas, A., Pouca, A. S. V., Barbosa, J., Leston, S., Rosa, J., Ramos, F., Cabral, H. N., Gillanders, B. M. y Fonseca, V. F. (2018). Screening of human and veterinary pharmaceuticals in estuarine waters: A baseline assessment for the Tejo estuary. *Marine Pollution Bulletin*, 135, 1079-1084. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.08.036>
56. Rodríguez-Mozaz, S., Chamorro, S., Martí, E., Huerta, B., Gros, M., Sánchez-Melsió, A., Borrero, C. M., Barceló, D. y Balcázar, J. L. (2015). Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in hospital and urban wastewaters and their impact on the receiving river. *Water research*, 69, 234-242. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.11.021>

57. Roulová, N., Mot'ková, P., Brožková, I. y Pejchalová, M. (2022). Antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from hospital wastewater in the Czech Republic. *Journal of Water and Health*, 20(4), 692-701. <https://doi.org/10.2166/wh.2022.101>
58. Serna-Galvis, E. A., Martínez-Mena, Y. L., Porras, J. y Torres-Palma, R. A. (2022). Antibióticos de alto consumo en Colombia, excreción en orina y presencia en aguas residuales-una revisión bibliográfica. *Ingeniería y competitividad*, 24(1). <https://doi.org/10.25100/iyv.v24i1.11267>
59. Skiada, A., Markogiannakis, A., Plachouras, D. y Daikos, G. L. (2011). Adaptive resistance to cationic compounds in *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 37(3), 187-193. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2010.11.019>
60. Soares, A., Roussel, V., Pestel-Caron, M., Barea, M., Caron, F., Bouffartigues, E., Chevalier, S. y Etienne, M. (2019). Understanding ciprofloxacin failure in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm: persister cells survive matrix disruption. *Frontiers in Microbiology*, 10. doi: 10.3389/fmicb.2019.02603
61. Song, Fangchao, Hao Wang, Karin Sauer, and Dacheng Ren. (2018). Cyclic-Di-GMP and OprF Are Involved in the Response of *Pseudomonas Aeruginosa* to Substrate Material Stiffness during Attachment on Polydimethylsiloxane (PDMS). *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02603>
62. Spongberg, A. L., Witter, J. D., Acuña, J., Vargas, J., Murillo, M., Umaña, G., Gómez, E. y Perez, G. (2011). Reconnaissance of selected PPCP compounds in Costa Rican surface waters. *Water research*, 45(20), 6709-6717. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.10.004>
63. Tahrani, L., Van Loco, J., Ben Mansour, H. y Reyns, T. (2016). Occurrence of antibiotics in pharmaceutical industrial wastewater, wastewater treatment plant and sea waters in Tunisia. *Journal of water and health*, 14(2), 208-213. <https://doi.org/10.2166/wh.2015.224>
64. Torrens, G., Hernández, S. B., Ayala, J. A., Moya, B., Juan, C., Cava, F. y Oliver, A. (2019a). Regulation of AmpC-driven β -lactam resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: different pathways, different signaling. *MSystems*, 4(6), 10-1128. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00524-19>
65. Tran, N. H., Hoang, L., Nghiem, L. D., Nguyen, N. M. H., Ngo, H. H., Guo, W., Trinh, Q. T., Mai, N. H., Chen, H., Nguyen, D. D., Ta, T. T. y Gin, K. Y. H. (2019). Occurrence and risk assessment of multiple classes of antibiotics in urban canals and lakes in Hanoi, Vietnam. *Science of the Total Environment*, 692, 157-174. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.092>
66. Valdés, M. E., Santos, L. H., Castro, M. C. R., Giorgi, A., Barceló, D., Rodríguez-Mozaz, S. y Amé, M. V. (2021). Distribution of antibiotics in water, sediments and biofilm in an urban river (Córdoba, Argentina, LA). *Environmental Pollution*, 269, 116133. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116133>
67. Verlicchi, P., Al Aukidy, M., Galletti, A., Petrovic, M. y Barceló, D. (2012). Hospital effluent: investigation of the concentrations and distribution of pharmaceuticals and environmental risk assessment. *Science of the total environment*, 430, 109-118. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.04.055>

68. Viana, P., Meisel, L., Lopes, A., de Jesus, R., Sarmiento, G., Duarte, S., Sepodes, B., Fernandes, A., Correia, dos S. M. M., Almeida, A. y Oliveira, M. C. (2021). Identification of antibiotics in surface-groundwater. A tool towards the ecopharmacovigilance approach: A portuguese case-study. *Antibiotics*, 10(8), 888. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10080888>
69. Viducic, D., Ono, T., Murakami, K., Susilowati, H., Kayama, S., Hirota, K. y Miyake, Y. (2006). Functional analysis of *spoT*, *relA* and *dksA* genes on quinolone tolerance in *Pseudomonas aeruginosa* under nongrowing condition. *Microbiology and Immunology*, 50(4), 349-357. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2006.tb03793.x>
70. Voolaid, V., Jöers, A., Kisand, V. y Tenson, T. (2012). Co-occurrence of resistance to different antibiotics among aquatic bacteria. *BMC Microbiology*, 12(1), 225. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-12-225>
71. Whitchurch, C. B., Tolker-Nielsen, T., Ragas, P. C. y Mattick, J. S. (2002). Extracellular DNA required for bacterial biofilm formation. *Science*, 295(5559), 1487. <https://doi.org/10.1126/science.295.5559.1487>
72. Yamaguchi, Y., Park, J. H. y Inouye, M. (2011). Toxin-antitoxin systems in bacteria and archaea. *Annual Review of Genetics*, 45(1), 61-79. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-110410-132412>
73. Yu, X., Tang, X., Zuo, J., Zhang, M., Chen, L. y Li, Z. (2016). Distribution and persistence of cephalosporins in cephalosporin producing wastewater using SPE and UPLC-MS/MS method. *Science of the total environment*, 569, 23-30. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.113>
74. Zadeh, R. G., Kalani, B. S., Ari, M. M., Talebi, M., Razavi, S. y Jazi, F. M. (2022). Isolation of persister cells within the biofilm and relative gene expression analysis of type II toxin/antitoxin system in *Pseudomonas aeruginosa* isolates in exponential and stationary phases. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 28, 30-37. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2021.11.009>
75. Žiemytė, M., Carda-Diéguez, M., Rodríguez-Díaz, J. C., Ventero, M. P., Mira, A. y Ferrer, M. D. (2021). Real-time monitoring of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm growth dynamics and persister cells' eradication. *Emerging Microbes & Infections*, 10(1), 2062-2075. <https://doi.org/10.1080/22221751.2021.1994355>
76. Zorita, S., Mårtensson, L. y Mathiasson, L. (2009). Occurrence and removal of pharmaceuticals in a municipal sewage treatment system in the south of Sweden. *Science of the total environment*, 407(8), 2760-2770. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.12.030>
77. Zuccato, E., Castiglioni, S., Bagnati, R., Melis, M. y Fanelli, R. (2010). Source, occurrence and fate of antibiotics in the Italian aquatic environment. *Journal of hazardous materials*, 179(1-3), 1042-1048. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.03.110>