



Pseudomonas en arroyos y ríos de Paraguay: un análisis de su perfil de susceptibilidad a los antibióticos

Gabriela Raquel Lambrecht Lambrecht , Robles Yssax Benitez Ortiz , Diego Bernal Chávez 

Resumen — Las bacterias del género *Pseudomonas* se han convertido en una preocupación creciente debido al desarrollo de resistencia a múltiples antibióticos, promovida, en los ambientes acuáticos, por facilidad de transferencia de genes de resistencia. Este trabajo evaluó la concentración y el perfil de susceptibilidad a antibióticos de *Pseudomonas* spp. aisladas de arroyos y ríos de 22 sitios pertenecientes a 8 ciudades de los departamentos de Alto Paraná y Canindeyú, Paraguay. Los antibióticos utilizados fueron gentamicina, ceftazidima, levofloxacin, amikacina, tobramicina, cefepima y colistina. Se aislaron 29 cepas, con una concentración máxima de 50 UFC/100 mL en el punto denominado Arroyo Ju'i Rupa de la ciudad de Hernandarias, Alto Paraná. Todos los aislados recuperados presentaron sensibilidad completa a los antibióticos utilizados. Estos resultados son contrarios a la creciente tendencia de farmacoresistencia y proporcionan una línea de base de referencia para un posterior monitoreo continuo que auxilie en la detección de cambios en los genes de resistencia en la comunidad bacteriana total (resistoma) de estos cuerpos de agua.

Palabras clave— Susceptibilidad antibiótica, *Pseudomonas*, resistoma ambiental, recursos hídricos, una salud.

Abstract — Bacteria of the genus *Pseudomonas* have become a growing concern due to the development of multidrug resistance, promoted in aquatic environments by the ease of transfer of resistance genes. This study evaluated the concentration and antibiotic susceptibility profile of *Pseudomonas* spp. isolated from streams and rivers at 22 sites in eight cities in the departments of Alto Paraná and Canindeyú, Paraguay. The antibiotics used were gentamicin, ceftazidime, levofloxacin, amikacin, tobramycin, cefepime, and colistin. 29 strains were isolated, with a maximum concentration of 50 CFU/100 mL at the site known as Arroyo Ju'i Rupa in the city of Hernandarias, Alto Paraná. All isolates recovered were completely sensitive to the antibiotics used. These results are contrary to the growing trend of drug resistance and provide a baseline for further continuous monitoring to aid in the detection of changes in resistance genes in the total bacterial community (resistome) of these water bodies.

Keywords— Antibiotic susceptibility, *Pseudomonas*, environmental resistance, water resources, health.

I. INTRODUCCIÓN

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) es una de las

mayores amenazas para la salud mundial, la seguridad alimentaria y el desarrollo (Organización Mundial de la Salud, 2021). El uso indebido y excesivo de antibióticos en la medicina humana y veterinaria ha acelerado la aparición y propagación de microorganismos farmacoresistentes. Los entornos acuáticos, como ríos y arroyos, actúan como reservorios y vías de diseminación de bacterias resistentes y genes de resistencia, creando un ciclo complejo que conecta los efluentes sin tratamiento con el medio ambiente (Larsson & Flach, 2022).

Dentro de este contexto, el género *Pseudomonas* específicamente, la especie *Pseudomonas aeruginosa*, ocupa un lugar preponderante (Crone et al., 2020) al ser un patógeno oportunista, responsable de una amplia gama de infecciones que afectan el torrente sanguíneo, tracto urinario, piel, oído y ojos. Su capacidad intrínseca y adquirida para resistir a múltiples clases de antibióticos la ha catalogado como un patógeno prioritario en la lista de la Organización Mundial de la Salud (2017).

La vigilancia de la susceptibilidad antibiótica en cepas ambientales de *Pseudomonas* es crucial ya que, como mencionado, estas bacterias pueden servir como un reservorio genético para la transferencia de resistencia a cepas clínicamente relevantes. En Paraguay, la información sobre la prevalencia y el perfil de resistencia de las *Pseudomonas* en cuerpos de agua superficiales es limitada. En esta investigación se ha propuesto abordar esta brecha de conocimiento, con el objetivo de aislar, cuantificar y caracterizar el perfil de susceptibilidad a antibióticos de cepas de *Pseudomonas* presentes en arroyos y ríos de los departamentos de Alto Paraná y Canindeyú, Paraguay, dos regiones de gran importancia hídrica y productiva para el país.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal. Se seleccionó 22 puntos de muestreo en arroyos y ríos de zonas urbanas y rurales de los departamentos de Alto Paraná (AP) y Canindeyú (CAN), cubriendo 8 ciudades (Tabla 1). Los muestreos fueron realizados en el periodo comprendido entre noviembre y diciembre de 2021.

Toma de muestras

La muestra correspondiente a 100 mL de agua superficial se recolectó en frascos estériles siguiendo protocolos estandarizados para análisis microbiológico y se transportaron en condiciones de refrigeración al laboratorio para su

Enviado 30/09/2025 Aceptado: 28/10/2025

G.R.L.L. Autor, Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción Campus Alto Paraná. Ciudad del Este, Paraguay. R.Y.B.O. Autor, Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción Campus Alto Paraná. Correo: robles_benitez@hotmail.com. D.B.C. Autor, Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción Campus Alto Paraná. Hernandarias, Paraguay.

procesamiento, en un plazo no mayor a 24 horas (Rosen et al., 1999).

Tabla 1. Localización de los puntos de muestreo estudiados, con datos de coordenadas (UTM), ciudad y departamento.

Nombre	X; Y	Ciudad	Dpto
Ao.Cristal	767.807; 7.335.339	Salto del Guairá	CAN
Río Carapa	734.752; 7.322.564	Salto del Guairá	CAN
Río Cruce Yaguarete 1	751.988; 7.256.896	Minga Porã	AP
Río Cruce Yaguarete 2	752.092; 7.257.027	Minga Porã	AP
Río Cruce Yaguarete 3	752.837; 7.251.691	Minga Porã	AP
Ao. Entre Ríos	720.789; 7.262.435	Minga Porã	AP
Ao. Gasory	763.400; 7.327.005	Salto del Guairá	CAN
Río Itambey Ruta 4	715.629; 7.273.809	Nueva Esperanza	AP
Río Itabo Ruta4	726.028; 7.224.530	San Alberto	AP
Ao. Itabomi	723.639; 7.223.953	San Alberto	AP
Río Piratíy	767.583; 7.336.888	Salto del Guairá	CAN
Ao. Yaguatiy	720.919; 7.308.791	Corpus Christi	CAN
Ao. Acaraymi	740.201; 7.177.146	Minga Guazú	AP
Ao. Amambay (AA1)	738.404; 7.174.852	Ciudad del Este	AP
Ao. Amambay 2	737.679; 7.174.884	Ciudad del Este	AP
Ao. Amambay 3	737.304; 7.174.328	Ciudad del Este	AP
Ao. Jui Rupa 1	737.867; 7.186.816	Hernandarias	AP
Ao. Jui Rupa 3	736.485; 7.187.456	Hernandarias	AP
Ao. Toco Bore	772.405; 7.336.345	Salto del Guairá	CAN
Ao. Piratí'y	772.800; 7.335.407	Salto del Guairá	CAN
Ao. Carumbey	711.201; 7.251.458	Minga Porã	AP
Ao. Santa fe	731.524; 7.205.819	Santa Fé	AP

Ao: Arroyo; AP: Alto Paraná; CAN: Canindeyú; Dpto: departamento

Cultivo y aislamiento de bacterias

Para el cultivo microbiológico de las muestras, se utilizó la técnica de filtración por membrana para el aislamiento y recuento de *Pseudomonas* (Standing Committee of Analysts, 2015). Se filtraron los 100 ml de cada muestra a través de una membrana de nitrocelulosa con poro de 0.45 µm. Dicha membrana fue incubada sobre agar Cetrimide (Oxoid, UK) a 37°C durante 24-48 horas. Las colonias que presentaron un color verde, característica indicativa para *Pseudomonas*, fueron

contadas para la determinación de las Unidades Formadoras de Colonias por 100 mL (UFC/100 mL). Los aislados fueron purificados mediante resiembra en el mismo medio y su identificación presuntiva se basó en características bioquímicas a seguir: producción de pigmentos, morfología microscópica con tinción de Gram, fluorescencia bajo luz UV, resistencia a fenantrolina 1:10 y fermentación de medio TSI (triple sugar ion, Britania, Argentina). De manera similar, para cada sitio de estudio fueron sembradas las muestras para obtención de los coliformes fecales, mediante filtración en membrana de 100 mL de muestras y cultivo en medio mFc (Difco, UK).

Pruebas de susceptibilidad a antibióticos

El perfil de susceptibilidad antibiótica se evaluó mediante el método de difusión en disco de Kirby-Bauer, conforme a las directrices del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Para ello, se preparó un inóculo bacteriano estandarizado, equivalente al patrón 0.5 de McFarland, a partir de cada aislado puro, el cual fue sembrado de manera uniforme sobre placas de agar Mueller-Hinton. Posteriormente, se colocaron discos impregnados con los siguientes antibióticos: gentamicina (10 µg), ceftazidima (30 µg), levofloxacin (5 µg), amikacina (30 µg), tobramicina (10 µg), cefepima (30 µg) y colistina (10 µg). Las placas se incubaron a 37°C durante 18-24 horas, y los halos de inhibición resultantes se midieron en milímetros. Los resultados se interpretaron como "Sensible", "Intermedio" o "Resistente" de acuerdo con los puntos de corte establecidos por el CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2022; Hudzicki, 2009; Soares et al., 2020).

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Este estudio proporciona la primera evaluación del perfil de susceptibilidad de *Pseudomonas* spp. en aguas superficiales de Alto Paraná y Canindeyú. El hallazgo principal, una sensibilidad del 100% a un panel de siete antibióticos de relevancia clínica, es tanto sorprendente como alentador. Este resultado contrasta marcadamente con numerosos informes a nivel mundial que documentan una creciente prevalencia de *Pseudomonas* multiresistentes en entornos acuáticos (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2022; Berendonk et al., 2015; Govender et al., 2021).

El recuento bacteriano presentó un promedio general de 22 UFC/100 mL (Figura 1), evidenciando concentraciones bajas en la mayoría de los sitios. Los sitios urbanos mostraron una mayor variabilidad en ambas bacterias, con AA3 emergiendo como el punto más crítico al registrar simultáneamente la concentración más elevada de coliformes fecales (10,000 UFC/100ml) junto con niveles altos de *Pseudomonas* (40 UFC/100ml), mientras que JR3 presentó el patrón inverso con la máxima concentración de *Pseudomonas* (50 UFC/100ml) pero niveles moderados de coliformes (2,200 UFC/100ml). En contraste, los sitios rurales exhibieron un comportamiento homogéneo y consistentemente bajo para ambas bacterias, con concentraciones de *Pseudomonas* oscilando entre 10-20 UFC/100ml y coliformes fecales entre 100-400 UFC/100ml, sugiriendo un menor impacto antropogénico. Notablemente, tres sitios urbanos (Monday, JR1 y Sfe) presentaron recuentos

similares a los rurales para ambos indicadores (10-20 UFC/100ml de *Pseudomonas* y 200-600 UFC/100ml de coliformes), evidenciando que la clasificación geográfica urbano-rural no es determinante absoluto de la calidad microbiológica del agua.

Los halos de inhibición obtenidos se situaron dentro de los rangos de sensibilidad establecidos por CLSI, destacando la levofloxacina con diámetros promedio superiores a 25 mm y la amikacina con halos cercanos a 30 mm, lo cual confirma una sensibilidad del 100% en todos los aislados. No se detectaron cepas resistentes ni intermedias, lo que contrasta con estudios previos de la región donde se han reportado resistencias en otros géneros como *Escherichia*.

La ausencia de resistencia en las cepas aisladas en este estudio podría sugerir que, en el momento del muestreo, estos cuerpos de agua específicos presentaban una baja presión selectiva por contaminación con antibióticos. Es posible que la dilución natural, la biodegradación y la limitada exposición a efluentes hospitalarios o de producción ganadera intensiva en los puntos de muestreo contribuyan a este perfil de susceptibilidad favorable. Sin embargo, esto no se descarta la presencia de genes de resistencia en la comunidad bacteriana total (el resistoma) que no fueron detectados fenotípicamente en los aislados de *Pseudomonas* (Ishii, 2020).

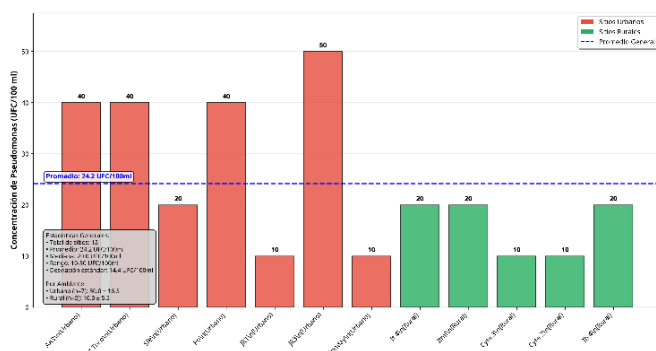


Gráfico 1. Recuento total de *Pseudomonas* en cada sitio de estudio. Las barras color rojo representan a sitios con entorno urbano y peri-urbano, las barras verdes representan a sitios con entorno rural y/o agrícola.

Las concentraciones bacterianas más altas que estuvieron entorno de 40 y 50 UFC/100 mL fueron halladas en arroyos urbanos y periurbanos (Figura 2). Y aunque los números no sean alarmantes, justifican la necesidad de un monitoreo regular, especialmente en aguas destinadas a uso recreativo o doméstico, en línea con los marcos de vigilancia ambiental propuestos por organizaciones internacionales de salud pública como el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC, 2024).

Aunque los sitios urbanos presentan concentraciones numéricamente superiores de *Pseudomonas* (30.0 ± 16.3 vs 16.0 ± 5.5 UFC/100ml) y coliformes fecales ($2,000 \pm 3,598$ vs

240 ± 114 UFC/100ml), estas diferencias no son estadísticamente significativas ($p = 0.203 > 0.05$, prueba U de Mann-Whitney), a pesar de mostrar un tamaño del efecto grande (d de Cohen = 1.067). El análisis de *clustering* jerárquico (Figura 2) identificó dos poblaciones microbiológicas distintas basadas en el nivel de contaminación: un **Cluster 1** de "baja contaminación" (8 sitios: 3 urbanos + 5 rurales) con concentraciones promedio de 15.0 UFC/100ml de *Pseudomonas* y 300 UFC/100ml de coliformes, y un **Cluster 2** de "alta contaminación" (4 sitios: exclusivamente urbanos) con 42.5 UFC/100ml de *Pseudomonas* y 3,200 UFC/100ml de coliformes. El mapa de calor ordenado por dendrograma confirmó visualmente estos patrones, destacando que sitios urbanos como Monday, JR1 y Sfe presentan niveles de contaminación similares a los rurales, mientras que AA3 emerge como un outlier extremo con 10,000 UFC/100ml de coliformes fecales. La correlación entre ambas bacterias es moderada pero no significativa ($r = 0.457$, $p = 0.135$), sugiriendo una fuente común de contaminación.

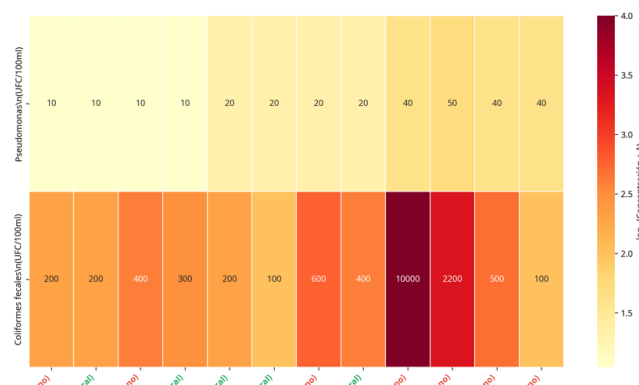


Figura 2. Mapa de calor de concentraciones bacterianas ordenadas por *Clustering*. Donde los números dentro de las barras corresponden a recuentos en UFC/100 mL, los sitios clasificados como entornos rurales se encuentran con fuente color verde y los sitios de entorno urbano en color rojo.

La detección de valores reducidos de UFC en la mayoría de los sitios, junto con la ausencia total de resistencia a los antimicrobianos ensayados, sugiere que los cuerpos de agua analizados no constituyen actualmente reservorios críticos de resistencia bacteriana. No obstante, la presencia de *Pseudomonas* en sí misma, confirma que estos microorganismos son habitantes naturales de dichos ecosistemas y su cuantificación podría servir como un indicador ambiental de la calidad microbiológica del agua.

Estos resultados representan una línea de base inicial para el seguimiento del resistoma ambiental en la cuenca del Paraná, proporcionando datos útiles para futuras comparaciones. Se recomienda una exploración más profunda a través de futuros estudios longitudinales o la detección a través de herramientas moleculares de genes de resistencia, que podrían estar presentes, pero no expresados (Franklin et al., 2021; Liguori et al., 2022).

IV. CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

GRL: Conceptualización, Metodología, Investigación, Análisis formal, Curación de datos, Redacción - Revisión y Edición. RYBO: Conceptualización, Metodología, Investigación, Análisis formal, Curación de datos, Redacción - Revisión y Edición. DBC: Conceptualización, Metodología, Investigación, Análisis formal, Curación de datos, Redacción - Revisión y Edición.

V. FINANCIACIÓN

Este trabajo fue realizado durante la pasantía curricular en el Laboratorio de Agua y Sedimentos (LASED), sector Limnología de la División de Embalse de ITAIPU Binacional, Margen derecha.

REFERENCIAS

- Berendonk, T. U., Manaia, C. M., Merlin, C., et al. (2015). Tackling antibiotic resistance: the environmental framework. *Nature Reviews Microbiology*, 13(5), 310-317. <https://www.nature.com/articles/nrmicro3439>
- Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC). (2024). Understanding Antibiotic Resistance in Water. <https://www.cdc.gov/one-health/php/stories/understanding-antibiotic-resistance-in-water.html>
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2022). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 32nd ed. CLSI supplement M100. <https://clsi.org/>
- Crone, S., Vives-Flórez, M., Kvich, L., et al. (2020). The environmental occurrence of *Pseudomonas aeruginosa*. *APMIS*, 128(4), 220-231. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/apm.13010>
- Franklin, A. M., Brinkman, N. E., Jahne, M. A., et al. (2021). Twenty-first century molecular methods for analyzing antimicrobial resistance in surface waters to support One Health assessments. *Journal of Microbiological Methods*, 184, 106201. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167701221000427>
- Fuentefria, D. B., Ferreira, A. E., & Corção, G. (2011). Antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from hospital wastewater and superficial water: are they genetically related?. *Journal of Environmental Management*, 92(10), 2749-2753. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479710002860>
- Govender, R., Amoah, I. D., Adegoke, A. A., et al. (2021). Identification, antibiotic resistance, and virulence profiling of *Aeromonas* and *Pseudomonas* species from wastewater and surface water. *Environmental Monitoring and Assessment*, 193(6), 347. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10661-021-09046-6>
- Hudzicki, J. (2009). *Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol*. Disponible en: www.atcc.org
- Ishii, S. (2020). Quantification of antibiotic resistance genes for environmental monitoring: current methods and future directions. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 14, 44-51. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2468584420300131>
- Larsson, D. G. J., & Flach, C. F. (2022). Antibiotic resistance in the environment. *Nature Reviews Microbiology*, 20(5), 257-269. <https://www.nature.com/articles/s41579-021-00649-x>
- Liguori, K., Keenum, I., Davis, B. C., et al. (2022). Antimicrobial resistance monitoring of water environments: a framework for standardized methods and quality control. *Environmental Science & Technology*, 56(13), 9149-9160. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.1c08918>
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2017). Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2021). Antimicrobial resistance. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
- Rojas-Bezares, B., Casado, C., Cenicer, T., et al. (2024). *Pseudomonas aeruginosa* from river water: antimicrobial resistance, virulence and molecular typing. *FEMS Microbiology Ecology*, 100(5), fiae028. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11004943/>
- Rosen, G., Mattison, B. E., Lifson, S., Bornian, E. C., Falk, I. S., Freeman, R. B., et al. (1999). *Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water*.
- Soares, A. C. G. M., Silva, R. A. S., de Jesus, C. V. F., Santana, R. F., Lima, Á. S., Lima, S. O., et al. (2020). Water and health risk assessment in the Aracaju Expansion Zone-SE. *Ambiente e Sociedade*, 23
- Standing Committee of Analysts. (2015). *The Microbiology of Drinking Water – Part 8 – Methods for the isolation and enumeration of Aeromonas and Pseudomonas aeruginosa*.