

Contaminantes emergentes y resistencia antimicrobiana en aguas residuales: detección, tratamiento y desafíos desde el enfoque *One Health*

Emerging contaminants and antimicrobial resistance in wastewater: detection, treatment and challenges from the *One Health* approach

Sindy D. Jojoa-Sierra^{1,a}, Itsaso Ilzarbe^{1,a}, Joanna Szpunar², Lara Pérez-Etayo^{3,4}, Samuel Moles^{5,6}, Laura Ruiz-Ripa⁷, Jairo Gómez¹

¹ Navarra de Infraestructuras Locales S.A. (NILSA), 31008, Pamplona, España.

² Instituto de Ciencias Analíticas y Físicoquímica para el Medio Ambiente y los Materiales (IPREM), Unidad mixta de investigación (UMR) 5254, Centro Nacional para la Investigación Científica de Francia (CNRS) y la Universidad de Pau y de los Países del Adour (CNRS-UPPA), 64053, Pau, France

³ Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias, Universidad de Navarra, 31008, Pamplona, España.

⁴ Instituto de Investigación Sanitaria de Navarra (IdiSNA), 31008, Pamplona, España.

⁵ Instituto de Investigación en Ciencias Ambientales de Aragón (IUCA), Universidad de Zaragoza, 50009, Zaragoza, España.

⁶ Departamento de Química General, Escuela Universitaria Politécnica La Almunia Universidad de Zaragoza, 50100, Zaragoza, España.

⁷ Departamento de Microbiología Clínica, Hospital Universitario de Navarra (HUN)-Navarrabiomed, 31008, Pamplona, España. ² Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE). CONICET y Universidad Nacional de La Plata. Argentina.



Citar como: Jojoa-Sierra SD, Ilzarbe I, Szpunar J, Pérez-Etayo L, Moles S, Ruiz-Ripa L, *et al.* Contaminantes emergentes y resistencia antimicrobiana en aguas residuales: detección, tratamiento y desafíos desde el enfoque *One Health*. *South Health*. 2026;3:e002. doi: 10.21142/SH-03-2026-e002

Fecha de recibido: 01/07/2025
Fecha de aceptado: 17/02/2026
Revisado por pares.

Editor: Sandra Martínez-Puchol



© Los autores, 2026. Publicado por la Universidad Científica del Sur (Lima, Perú)

^a Autores corresponsal:
Sindy D. Jojoa-Sierra
dayanajs@gmail.com
Navarra de Infraestructuras Locales S.A. (NILSA), 31008, Pamplona, España

Itzaso Itarbe
Ilzarbe@nilsa.com
Navarra de Infraestructuras Locales S.A. (NILSA), 31008, Pamplona, España

Resumen

La creciente presencia de antibióticos y otros fármacos, así como bacterias resistentes (ARB) y genes de resistencia (ARG), en las aguas residuales representa un desafío global por sus efectos a nivel ambiental y de salud pública. Los fármacos, son de particular interés pues a menudo no se eliminan completamente mediante los procesos convencionales de tratamiento de las aguas residuales. No obstante, la presencia de antibióticos en el medio ambiente es de especial interés pues puede contribuir a la diseminación global de la resistencia antimicrobiana y, por tanto, tener efectos también a nivel sanitario. Este artículo revisa algunos de los métodos de detección de antibióticos y otros contaminantes emergentes (CE), ARG y ARB. Se incluyen técnicas instrumentales, biosensores y enfoques moleculares, destacando el papel de la epidemiología basada en aguas residuales (WBE, por sus siglas en inglés, Wastewater-based epidemiology) para la monitorización a gran escala. Además, se exponen marcos regulatorios como, la nueva Directiva Europea de Tratamiento de Aguas Residuales Urbanas 2024/3019 (TARU), así como la reglamentación en diferentes regiones como Europa, América Latina, Asia, EE.UU. y Australia para estos contaminantes. Finalmente, se presenta el alcance y algunos avances del proyecto EMERGENTcy, una iniciativa impulsada desde POCTEFA, Programa INTERREG España-Francia-Andorra, enfocada en la detección de CE, ARB y ARG y en el desarrollo soluciones innovadoras para su eliminación de las aguas residuales, la concienciación pública y la integración de políticas que contribuyan en la puesta en marcha de soluciones a nivel regional. Esta recopilación, por tanto, resalta la importancia de integrar esfuerzos científicos, regulatorios y sociales para monitorizar los CE, ARB y ARG y encontrar soluciones conjuntas a su presencia en aguas y los riesgos asociados.

Palabras Clave: Contaminantes Emergentes, Resistencia antimicrobiana, Tratamiento avanzado de aguas, Directiva TARU, Una Salud.

Abstract

The increasing presence of antibiotics and other drugs, as well as antibiotic-resistant bacteria (ARBs) and resistance genes (ARGs), in wastewater represents a global challenge due to its environmental and public health effects. Drugs are of particular concern because they often resist conventional wastewater treatment processes. However, the presence of antibiotics in the environment is also noteworthy because it can contribute to the global spread of antimicrobial resistance and, therefore, have health implications. This article reviews some of the methods for detecting antibiotics and other emerging contaminants (ECs), ARGs, and ARBs. Instrumental techniques, biosensors, and molecular approaches are included, highlighting the role of wastewater-based epidemiology (WBE) for large-scale monitoring. Furthermore, regulatory frameworks are presented, such as the new European Urban Wastewater Treatment Directive 2024/3019 (URWT), as well as regulations in different regions, including Europe, Latin America, Asia, the USA, and Australia, regarding these contaminants. Finally, the scope and some progress of the EMERGENTcy project are presented. This initiative, promoted by POCTEFA, the INTERREG Spain-France-Andorra Program, focuses on the detection of EC, ARB, and ARG, and on developing innovative solutions for their removal from wastewater, raising public awareness, and integrating policies that contribute to the implementation of solutions at the regional level. This compilation, therefore, highlights the importance of integrating scientific, regulatory, and social efforts to monitor EC, ARB, and ARG and to find joint solutions to their presence in water and the associated risks.

Keywords: Emerging contaminants, antimicrobial resistance, advanced water treatment, TARU Directive, *One Health*.

Introducción

La presencia de Contaminantes emergentes (CE), bacterias resistentes (antibiotic-resistant bacteria - ARB) y genes de resistencia (antibiotic-resistant genes - ARG) en el ciclo urbano del agua (CUA) se ha convertido en un desafío crítico para la salud pública y la gestión ambiental. Estudios recientes han mostrado que estos compuestos y organismos pueden persistir en aguas residuales y alcanzar cuerpos de agua naturales, representando potenciales riesgos para los ecosistemas y la población humana (Bombaywala *et al.*, 2021; Halling-Sorensen *et al.*, 1998; Wang *et al.*, 2024). Este fenómeno está estrechamente relacionado con el uso intensivo y amplio de antibióticos, tanto en el ámbito clínico como en el veterinario para tratar infecciones bacterianas. No obstante, su uso es más extendido pues, también se administran de forma profiláctica durante procedimientos quirúrgicos para prevenir infecciones postoperatorias, así como en pacientes inmunocomprometidos, como aquellos con cáncer, VIH o enfermedades crónicas (Coccolini *et al.*, 2021; Freifeld *et al.*, 2011). En el ámbito veterinario, además de su uso terapéutico y preventivo, también han sido usados como promotores del crecimiento en animales de producción. Esto se logra mediante la administración de dosis subterapéuticas que mejoran la eficiencia alimenticia y aceleran el desarrollo ponderal (Polianciuc *et al.*, 2020; Tiseo *et al.*, 2020).

Una vez el medicamento es administrado y su función es cumplida, muchos antibióticos son excretados en forma activa o como metabolitos apenas modificados (Bade *et al.*, 2024; Madikizela *et al.*, 2020). Su uso extendido y, en muchos casos, no regulado, puede ejercer presión selectiva sobre las poblaciones bacterianas, favoreciendo la supervivencia y propagación de aquellas que han desarrollado resistencias. En ambientes con alta densidad bacteriana, como los sistemas digestivos o las aguas residuales, las ARB pueden transferir material genético entre sí a través de mecanismos como la transferencia horizontal de genes. Esto acelera la aparición y diseminación de resistencia antimicrobiana, dificultando el tratamiento de infecciones con los antibióticos disponibles (Hassoun-Kheir *et al.*, 2020; Walsh *et al.*, 2023).

Los antibióticos y sus metabolitos junto ARB y ARG, llegan a las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDAR) a través de las redes de saneamiento, y en muchos casos, no son completamente eliminadas por los procesos convencionales de tratamiento, terminando finalmente en el medio ambiente (Bhatt y Chatterjee, 2022; Davey *et al.*, 2022; He *et al.*, 2015). Este fenómeno ha llevado a que estos agentes sean considerados contaminantes de preocupación emergente (CE), debido a su persistencia, efectos adversos potenciales y falta de regulación específica. Además, dicha presencia en efluentes representa un riesgo potencial para la salud pública y la biodiversidad, ya que facilita la propagación de la resistencia antimicrobiana a lo largo del ciclo del agua (Hong *et al.*, 2013; WHO, 2014). La resistencia a los antibióticos (RAM) se ha consolidado como una de las principales amenazas sanitarias a nivel global. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, WHO por sus siglas en inglés), si no se toman medidas urgentes, la RAM podría

causar hasta 10 millones de muertes anuales para 2050 (Price, 2016).

En la actualidad, la comunidad científica ha intensificado sus esfuerzos para comprender y mitigar la diseminación de la resistencia a los antibióticos a través del medio ambiente. Entre estas iniciativas, el proyecto EMERGENTcy adopta un enfoque integral orientado al reconocimiento de las fuentes de contaminación en el CUA, la determinación del rol de las EDAR y el desarrollo de soluciones innovadoras para la eliminación de contaminantes emergentes, junto con acciones dirigidas a la concienciación pública y la integración de políticas de gestión del agua y salud pública. En este contexto, el presente artículo tiene como objetivo revisar los avances en la detección de CE, ARB y ARG en agua, así como recopilar los desarrollos en su regulación en diferentes regiones y exponer avances logrados por el proyecto EMERGENTcy,

Detección y Seguimiento de Antibióticos, ARB y ARG en las Aguas Residuales

El análisis de aguas residuales se ha consolidado en la última década como una herramienta innovadora para la obtención de datos epidemiológicos y sociales a gran escala. Este enfoque ha dado origen al campo emergente de la epidemiología basada en aguas residuales (wastewater-based epidemiology - WBE) (Choi *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2019). La WBE permite el monitoreo indirecto y anónimo de la salud pública y los hábitos de consumo de poblaciones enteras mediante el análisis de metabolitos, compuestos químicos y biomarcadores genéticos excretados por los individuos y canalizados a través de los sistemas de alcantarillado. En la WBE, el agua residual urbana actúa como un "espejo metabólico colectivo", reflejando en tiempo real las exposiciones, comportamientos y riesgos de la sociedad (Sims y Kasprzyk-Hordern, 2020; Zhang *et al.*, 2019). A través del análisis sistemático de estos efluentes, es posible detectar la presencia de CE, así como virus entéricos ARB y ARG (Bade *et al.*, 2024; Wang *et al.*, 2025). Este tipo de vigilancia ofrece ventajas significativas frente a los métodos tradicionales que evalúan dinámicas sociales sin necesidad de encuestas o participación individual.

En este sentido el monitoreo de antibióticos, ARB y ARG en aguas residuales es una nueva herramienta que permite:

- **Anticipar Riesgos para la Salud Pública:** La presencia de ARB y ARG en el agua puede servir como un indicador temprano de posibles amenazas sanitarias, permitiendo a las autoridades tomar medidas preventivas.
- **Determinar la Eficacia de los Tratamientos de Aguas Residuales:** Evaluar si los procesos de depuración actuales y las nuevas tecnologías implementadas son capaces de reducir eficazmente la carga de resistencia en el agua.
- **Fomentar la Innovación Tecnológica:** La identificación de puntos críticos y áreas de riesgo estimula la investigación y el desarrollo de soluciones tecnológicas específicas que

puedan erradicar estos contaminantes a nivel ambiental.

- Informar Políticas Regulatorias: El reconocimiento y análisis de datos precisos sobre la presencia y distribución de ARB y ARG son fundamentales para el desarrollo de normativas que regulen el uso de antibióticos y la gestión de aguas residuales.

Metodologías de Detección de Antibióticos en Aguas

Existe una gran variedad de métodos que permiten detectar antibióticos, a continuación, se hace una recopilación de algunos de ellos (Tabla 1). Entre los métodos clásicos, destacan los inmunoensayos, como ELISA (ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas), inmunoensayo de flujo lateral (Lateral Flow Immunoassay - LFIA) y el inmunoensayo fluorescente (Fluorescence Immunoassay - FIA). El principio fundamental de estos métodos radica en el reconocimiento molecular de proteínas altamente selectivas que se unen específicamente al analito (en este caso, el antibiótico) presente en la muestra. Pruebas como ELISA, detectan antibióticos mediante una reacción enzimática que genera una señal colorimétrica. El antibiótico o su derivado se inmoviliza en una placa, y se añade un anticuerpo marcado con una enzima (como la peroxidasa), cuando se incorpora el sustrato de la enzima, se produce un cambio de color cuya intensidad puede medirse con un espectrofotómetro (Aga et al., 2003; Kumar et al., 2004).

Tabla 1. Técnicas de Detección de Antibióticos en Aguas

Técnica	Límite de detección típico (ng/L)	Aplicabilidad	Limitaciones	Referencia
ELISA	1 – 1x10 ³	Cribado de alto número de muestras. kits comerciales para muchas clases de antibióticos; alta capacidad (tests por día).	Interferencias de matriz, cruzada reactividad	(Jaria et al., 2020)
LFIA	1x10 ² – 1x10 ⁴	Cribado rápido en campo (presencia/ ausencia), detección simultánea y rápida.	Baja sensibilidad para efluentes tratados	(Bartosh et al., 2020; Di Nardo et al., 2021; Luo et al., 2024)
FIA	1x10 ⁻¹ – 1x10 ¹	Mayor sensibilidad que ELISA para aguas complejas	Autofluorescencia, requiere limpieza	(Chang et al., 2025; Liu et al., 2022)
LC-MS/MS	1x10 ⁻³ – 1x10 ¹	Multi-residuo, alta selectividad y exactitud, confirmación estructural, cuantificación.	Alto costo y tiempo analítico	(Fabregat-Safont et al., 2023; Nunes et al., 2022)
S. electroquímicos	1x10 ¹ – 1x10 ²	Rápidos, portátiles, fáciles de integrar en monitores in situ; buena sensibilidad para muchas moléculas, bajo consumo de muestra y facilidad de miniaturización	Interferencias de matrices complejas, limitaciones de estabilidad y reproducibilidad, y una capacidad multianalito reducida	(Frigoli et al., 2024; Liu et al., 2022; Pollap y Kochana, 2019)

S. ópticos	Varía según pretratamiento	Observación visual sencilla, operación simple, bajo costo y respuesta rápida	Reproducibilidad y preparación de muestra	(Liu et al., 2022; Luo et al., 2024; Sun et al., 2021)
S. foto-electroquímicos	1x10 ¹ – 1x10 ²	Buena sensibilidad y bajo ruido eléctrico; potencial para dispositivos portátiles y bajo consumo, prometedores para aguas residuales diluidas	En etapa investigación/ desarrollo; baja estabilidad de electrodos y reproducibilidad mejorable en matrices reales.	(Lan et al., 2017; Z. Li y Zhu, 2020)

ELISA: Ensayo por Inmunoadsorción Ligado a Enzimas; LFIA: Análisis Inmuncromatográfico de Flujo Lateral; FIA: Inmunofluorescencia; S: Sensores.

Por su parte, en los ensayos de LFIA la muestra se desplaza por capilaridad a través de una tira que contiene anticuerpos específicos. Si el antibiótico está presente, se une a estos anticuerpos y genera una señal visible (por ejemplo, una línea coloreada), lo que permite una detección cualitativa o semicuantitativa en pocos minutos. Son ampliamente conocidos por su uso en pruebas rápidas (como las de embarazo o COVID-19).

Finalmente, pruebas de FIA utilizan anticuerpos marcados con fluoróforos que, al unirse al analito, emiten una señal fluorescente cuando se excitan con una fuente de luz adecuada. Esta señal puede ser cuantificada con un lector de fluorescencia, lo que mejora la sensibilidad y precisión del método respecto a los inmunoensayos colorimétricos (Fang et al., 2022; Majdinasab et al., 2020). Estos métodos son ampliamente utilizados por su especificidad, bajo costo y facilidad de uso. No obstante, su eficacia depende de la calidad de los anticuerpos y pueden presentar reactividad cruzada con compuestos estructuralmente similares, por lo que su aplicación cuando se requiere identificar múltiples analitos simultáneamente o realizar análisis en matrices complejas como el agua residual es un desafío (Ahmed et al., 2020; Di Nardo et al., 2021).

Dentro de las técnicas instrumentales avanzadas se incluye la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry - LC-MS/MS). En la primera etapa, la cromatografía líquida permite separar los compuestos presentes en una muestra compleja mediante su interacción diferencial con una fase estacionaria (generalmente sílice modificada, como C18) y una fase móvil compuesta por una mezcla de disolventes. Cada compuesto eluye en un tiempo de retención característico, lo que reduce interferencias en la detección. Posteriormente, los analitos ingresan al espectrómetro de masas, donde son ionizados, comúnmente mediante electrospray (Electrospray Ionization - ESI), generando iones cargados en fase gaseosa. Estos iones son seleccionados según su relación masa/carga (m/z). En el análisis en tándem (Tandem Mass Spectrometry - MS/MS), el ion precursor seleccionado se fragmenta de manera controlada en una celda de colisión, produciendo iones producto específicos. El análisis de estas transiciones precursor-producto proporciona una mayor selectividad y sensibilidad, ya que se confirma la identidad del compuesto mediante su patrón de fragmentación característico.

La combinación, la LC-MS/MS permite la identificación inequívoca y cuantificación exacta de múltiples antibióticos y sus metabolitos en una única corrida analítica, incluso en presencia de otras sustancias químicas presentes en matrices complejas como aguas residuales urbanas, hospitalarias o industriales puede alcanzar límites de detección del orden de los nanogramos por litro (ng/L) o inferiores, lo que la convierte en una herramienta esencial para el monitoreo ambiental y la vigilancia de CE (Petrović *et al.*, 2005; Sapingi *et al.*, 2023). Esta técnica exige instrumentación altamente especializada, una preparación meticulosa de las muestras (que puede incluir filtración, concentración por extracción en fase sólida y ajuste de pH), y personal cualificado para interpretar adecuadamente los espectros y validar los métodos. Por estas razones, aunque la LC-MS/MS es considerada el estándar de oro en el análisis de antibióticos en medios ambientales, su aplicación rutinaria puede estar limitada por costos y capacidades técnicas, especialmente en contextos con recursos analíticos restringidos.

Por su parte, métodos modernos han incorporado tecnologías más versátiles, como los sensores, que permiten una detección rápida, en tiempo real y en el lugar del muestreo. Estos sensores incluyen varias modalidades.

- Sensores electroquímicos, se basan en la medición de cambios en señales eléctricas generadas por la interacción específica entre el antibiótico y materiales sensibles del sensor. Estas técnicas incluyen métodos potenciométricos, amperométricos, voltamétricos y sensores basados en transistores de efecto de campo, los cuales permiten detectar variaciones de potencial, corriente o conductividad eléctrica. Los sensores electroquímicos emplean electrodos modificados con sondas selectivas, como aptámeros, enzimas o polímeros impresos molecularmente, que interactúan con los antibióticos y producen señales proporcionales a su concentración.
- Sensores ópticos, Los sensores ópticos detectan antibióticos a través de la modulación de propiedades ópticas generadas señales basadas en cambios de absorbancia, emisión fluorescente, dispersión o variaciones del índice de refracción cuando el analito está presente. Estas señales ópticas se traducen luego en una respuesta cuantificable. Las técnicas ópticas incluyen la colorimetría, la fluorimetría, la resonancia de plasmones superficiales (Surface Plasmon Resonance - SPR) y la espectroscopía Raman mejorada en superficie (Surface-Enhanced Raman Spectroscopy - SERS), que han mostrado alta sensibilidad en la detección de moléculas biológicas y químicas al aprovechar propiedades espectrales de la luz tras interacción con bioreceptores (por ejemplo, aptámeros o anticuerpos) o superficies funcionalizadas.
- Sensores fotoelectroquímicos combinan una excitación óptica con transducción electroquímica: un material fotosensible absorbe luz para generar portadores de carga (electrones/huecos) que inducen una señal eléctrica (fotocorriente) proporcional a la concentración del analito. Esta separación de entrada óptica y salida eléctrica reduce el ruido de fondo y permite una mayor

sensibilidad en comparación con técnicas puramente electroquímicas tradicionales.

La detección de antibióticos mediante sensores enfrenta varios retos clave que requieren atención en investigación. La variabilidad en la calidad de fabricación puede generar errores de medición y reducir la reproducibilidad, lo que sugiere la necesidad de desarrollar protocolos estandarizados, materiales más uniformes y técnicas de calibración automatizadas. Además, la alta dependencia de las condiciones ambientales, como pH, temperatura y humedad, afecta la respuesta de los sensores, motivando el diseño de dispositivos más robustos y adaptativos, con recubrimientos protectores o algoritmos de compensación ambiental. Por último, el alcance de aplicación limitado restringe su uso frente a métodos instrumentales como LC-MS/MS, que ofrecen mayor sensibilidad y capacidad multi-análisis; esto abre oportunidades para crear sensores multiplexados o híbridos capaces de detectar simultáneamente múltiples antibióticos y combinarse con técnicas complementarias para mejorar selectividad y sensibilidad. (Liu *et al.*, 2022; Suo *et al.*, 2025).

Metodologías de Detección de ARB y ARG

La detección de ARB y ARG se aborda mediante la combinación de métodos microbiológicos tradicionales, técnicas moleculares avanzadas, métodos basados en sensores y enfoques metagenómicos, cada uno con aplicaciones y ventajas específicas (Tablas 2 y 3).

Los métodos microbiológicos tradicionales para identificar ARB requieren su aislamiento mediante medios de cultivo sólidos o líquidos, generales o selectivos. Posteriormente, las bacterias presentes se identifican y se aplican pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos como la difusión en disco (Kirby-Bauer), el test de dilución en caldo y el método de E-test que, permiten evaluar el fenotipo de resistencia midiendo la inhibición del crecimiento bacteriano en presencia de antibióticos; aunque son accesibles y estandarizados, requieren tiempo y cultivo previo (Galhano *et al.*, 2021; Siedlecka y Piekarska, 2017).

La espectrometría de masas por desorción/ionización láser asistida por matriz acoplada a tiempo de vuelo (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight - MALDI TOF-MS) es una herramienta ampliamente utilizada para la identificación rápida de microorganismos en microbiología clínica. En este proceso, las bacterias se ionizan y se separan en función de su relación masa/carga, generando un perfil proteómico característico que permite la identificación a nivel de especie (Chen *et al.*, 2021; Siller-Ruiz *et al.*, 2017). Más recientemente, esta técnica se ha extendido al estudio de mecanismos de resistencia antimicrobiana. Para conseguirlo, los microorganismos se ponen en contacto con antibióticos específicos y se evalúa su capacidad para modificar o hidrolizar el compuesto, la aparición o desaparición de picos asociados al antibiótico intacto o a sus productos de degradación permite inferir la presencia de mecanismos enzimáticos de resistencia, como la producción de β -lactamasas o carbapenemasas,

Tabla 2. Técnicas para la determinación de la sensibilidad de bacterias y detección de bacterias resistentes en aguas

Técnica	Límite/ Resultado típico	Aplicabilidad	Limitaciones	Referencias
Difusión en disco (Kirby Bauer)	Semi-cuantitativo (diámetro de halo de inhibición)	Evaluación rápida de susceptibilidad bacteriana frente a antibióticos; adecuado para muchas bacterias de crecimiento rápido.	No proporciona CIM; puede ser afectado por difusión de antibiótico, no siempre válido para organismos exigentes.	(CLSI, 2020; EUCAST, 2017, 2025; Siedlecka y Piekarska, 2017)
Dilución en caldo (broth microdilution)	CIM cuantitativa (µg/mL o mg/L)	Método de referencia para determinar CIM; aplicable a la mayoría de bacterias y antibióticos y usado en vigilancia de resistencia.	Requiere incubación prolongada, laboratorio especializado y controles estrictos para reproducibilidad; más laborioso.	(EUCAST, 2017; OMSA, 2019)
E test (tira de gradiente)	CIM cuantitativa estimada (valor obtenido directamente a partir de la intersección del halo con la tira).	Combina principios de difusión y dilución para estimar CIM en una sola placa de agar; útil para microorganismos exigentes o cuando se necesitan pocos ensayos.	Costo más alto de tiras; correlación con otros métodos puede variar para algunos antibióticos; requiere lectura cuidadosa.	(CLSI, 2020; EUCAST, 2017; WOH, 2024)
MALDI-TOF MS	Detecta perfiles proteómicos de ARB; no mide directamente ARG	Identificación rápida de bacterias resistentes cultivables en aguas; seguimiento de ARB clínicos o ambientales.	Requiere concentración bacteriana suficiente y cultivo previo; no detecta ARG directamente ni genes no expresados.	(Conza, 2022; Florio et al., 2020; Maldonado Natalia, 2017; Oviaño y Bou, 2018; Reig-Viader y Giménez, 2019; Yoon y Jeong, 2021)
Sensores electroquímicos	Dependen del diseño y sondas	Detección rápida; potencial para monitoreo in situ.	Interferencias de materia orgánica y sales; requiere inmovilización de sondas y calibración; diseños aún experimentales.	(Guliy et al., 2022; Madhu et al., 2022; Magnano San Lio et al., 2023)
Sensores ópticos (fluorescencia, SPR)	Muy bajos para secuencias o proteínas específicas	Detección en aguas limpias o parcialmente tratadas; monitoreo en tiempo real.	Afectados por turbidez, color y sólidos suspendidos; requieren superficies funcionalizadas y control óptico preciso.	Reynoso et al., 2021)
Sensores piezoeléctricos (QCM/SAW)	Altamente sensibles a cambios de masa superficial	Detección directa de unión de ADN de ARG o células ARB en aguas; útil para análisis en tiempo real.	Señal afectada por adsorción no específica, temperatura, pH y sólidos; requiere calibración cuidadosa.	

CIM: Concentración mínima inhibitoria; ARB: Bacterias resistentes, ARG: Genes de resistencia; MALDI-TOF MS: Espectrometría de masas por desorción/ionización láser asistida por matriz acoplada a tiempo de vuelo; SPR: Resonancia de plasmón superficial; QCM: Microbalanza de cristal de cuarzo; SAW: Ondas acústicas superficiales.

Tabla 3. Técnicas de Detección de Genes de Resistencia

Método	Límite / Sensibilidad típico	Aplicabilidad	Limitaciones	Referencias
PCR / qPCR / dPCR	~10–10 ³ copias por reacción (dPCR más sensible)	Detección y cuantificación de ARG y ARB en matrices complejas.	Necesita extracción eficiente de ADN; no distingue genes activos; interferencias por inhibidores presentes en agua residual.	(Liguori et al., 2022; Naznine et al., 2025)
Microarrays (DNA microarrays)	Útil para decenas/hasta cientos de genes	Perfil amplio de ARG en aguas; útil para estudios de contaminación y monitoreo de resistencia.	Menor sensibilidad para genes poco abundantes; requiere purificación de ADN y amplificación previa; costo relativamente alto.	(Gomes et al., 2015; Lemarchand et al., 2004; Wolff et al., 2019)
Metagenómica (NGS)	Detección masiva de ARG conocidos y emergentes	Análisis integral del resistoma acuático sin genes predefinidos; identificación de nuevos ARG	Alto costo; análisis bioinformático complejo; no distingue viabilidad ni expresión	(Abreu et al., 2021; Taylor et al., 2025; Yadav y Kapley, 2021)

ARG: Genes de resistencia; ARB: Bacterias resistentes; PCR: Reacción en cadena de la polimerasa; qPCR: PCR cuantitativa; dPCR: PCR digital; NGS: Secuenciación de próxima generación.

así como otros mecanismos asociados a modificaciones de dianas terapéuticas (Florio et al., 2020; Hrabák et al., 2013; Oviaño y Bou, 2018; Oviaño M, 2016; Yoon y Jeong, 2021). No obstante, la interpretación de estos perfiles no es trivial y la aplicación de MALDI-TOF MS para la caracterización rutinaria de mecanismos de resistencia aún se ve limitada por la necesidad de protocolos estandarizados y criterios claros de interpretación espectral. A pesar de ello, este enfoque resulta especialmente valioso por su rapidez, precisión y potencial para complementar los métodos convencionales de susceptibilidad antimicrobiana, y se está incorporando progresivamente en laboratorios clínicos para la identificación rápida de infecciones causadas por bacterias resistentes (Reig-Viader y Giménez, 2019).

Otros métodos para detectar ARB se basan en sensores y representan un avance significativo en la detección y, en muchos casos portátil, de bacterias resistentes. Entre los más utilizados se encuentran los biosensores, que emplean tecnologías como la electroquímica, la óptica y la piezoelectricidad para detectar cambios en las propiedades físicas o químicas cuando las bacterias o sus productos metabólicos interactúan con la superficie del sensor (Reynoso et al., 2021).

- Los biosensores electroquímicos, que detectan y cuantifican analitos biológicos mediante señales eléctricas (como corriente, voltaje o impedancia) por la combinación de un elemento biológico de reconocimiento con un transductor electroquímico y un procesador de señal, lo que permite convertir una interacción biológica específica en una señal eléctrica

mensurable y proporcional a la cantidad de analito presente.

- Los biosensores ópticos utilizan cambios en la absorbancia, fluorescencia o dispersión de luz cuando las bacterias interactúan con el sensor. Estos sensores pueden ser extremadamente sensibles, permitiendo la detección de cantidades muy pequeñas de bacterias resistentes en tiempo real (Elbehiry *et al.*, 2025).
- Los biosensores piezoeléctricos se usan para detectar bacterias resistentes a través de la medición de cambios en la frecuencia de resonancia de un cristal piezoeléctrico cuando se une un material biológico (como las bacterias) a su superficie. Este tipo de sensor se basa en el principio de que la masa de las partículas adheridas modifica la frecuencia de resonancia del cristal. Los biosensores piezoeléctricos son extremadamente sensibles y pueden detectar bacterias en concentraciones muy bajas (Pohanka, 2025).

Las técnicas moleculares, como PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa, Polymerase Chain Reaction en inglés), permiten amplificar genes específicos de resistencia, mientras que las técnicas de secuenciación de próxima generación (Next-Generation Sequencing - NGS) aplicadas a enfoques metagenómicos posibilitan el análisis masivo y simultáneo de millones de fragmentos de ADN, permitiendo identificar tanto especies bacterianas como una amplia gama de ARG conocidos y emergentes (Sundsfjord *et al.*, 2004). Esta tecnología es clave para caracterizar resistomas y estudiar la transferencia horizontal de genes en entornos clínicos y ambientales.

Por su parte, los microarrays de ADN, son técnicas que detectan ARG o ADN de ARB mediante hibridación específica. En una matriz sólida se fijan sondas dirigidas a secuencias específicas, y el ADN marcado de la muestra se aplica sobre microarrays. Solo las secuencias complementarias se unen, generando señales fluorescentes que indican la presencia de genes o bacterias resistentes. Este enfoque permite analizar muchos ARG o ARB simultáneamente, facilitando perfiles completos de resistencia para vigilancia y monitoreo. Los microarrays permiten analizar simultáneamente una gran cantidad de genes en una sola reacción, lo que los convierte en herramientas eficaces para el cribado rápido y sistemático de perfiles genéticos complejos, especialmente en laboratorios de investigación, diagnóstico avanzado o vigilancia epidemiológica (Buermans y den Dunnen, 2014; Rehman *et al.*, 2020).

Por su parte, la metagenómica permite el análisis del ADN total de comunidades microbianas presentes en una muestra, sin necesidad de cultivo, identificando tanto las ARB como los ARG, lo que resulta especialmente valioso para estudiar resistencias en ambientes complejos como aguas residuales, microbiotas humana o entornos hospitalarios. La integración de estos enfoques mejora significativamente la capacidad diagnóstica, la vigilancia ambiental y epidemiológica, y el diseño de estrategias eficaces para combatir la resistencia antimicrobiana (Abreu *et al.*, 2021; Apjok *et al.*, 2023; Taylor *et al.*, 2025; Yadav y Kapley, 2021).

Legislación y Contaminantes de Preocupación Emergente

Las EDAR han sido históricamente diseñadas para eliminar materia orgánica mediante una combinación de procesos físicos y biológicos y así, devolver el agua tratada al medio ambiente de forma segura. De manera complementaria, en algunas instalaciones existen sistemas para la eliminación de nutrientes como Fosforo y Nitrógeno, o la eliminación de bacterias patógenas, estos procesos ahora conocidos como terciarios, garantizan un efluente de mayor calidad antes de su vertido o reutilización. Diversos reportes recientes indican que las tecnologías actuales logran una eliminación parcial de los CE, ARB y ARG aun no habiendo sido diseñadas para este fin. Sin embargo, parte de esta contaminación alcanza el medio ambiente sin haber sido eliminada por completo (Leal, 2005; Van Doorslaer *et al.*, 2014; Wilhelm y Jauregui-Haza, 2009). Frente a este panorama, los esfuerzos a nivel global deben orientarse hacia el desarrollo de soluciones tecnológicas más eficientes, la modernización de las infraestructuras de tratamiento de aguas residuales y el establecimiento de marcos normativos que permitan dirigir, regular y controlar la calidad del agua vertida al medio ambiente. En este contexto, se presenta a continuación una revisión de las principales normativas y directrices regulatorias desarrolladas para abordar la presencia de contaminantes de preocupación emergente en distintas regiones (Tabla 4).

Tabla 4. Situación regulatoria y tecnológica de EDAR frente a CE, ARB y ARG en diferentes zonas a nivel mundial

Zona / País	Estado de la legislación	Exigencia tecnológica en EDAR	Consideración de CE, ARB y ARG
América Latina	Incipiente / en desarrollo	Baja: tratamientos convencionales (primario–secundario)	CE, ARB y ARG no regulados formalmente; evidencia científica
Estados Unidos	En transición regulatoria	Media: impulso a AOPs y carbón activado	CE reconocidos; ARB/ARG en investigación y monitoreo
Europa	Legislación avanzada y vinculante	Muy alta: tratamientos cuaternarios obligatorios	CE, ARB y ARG incluidos; vigilancia, control y responsabilidad del productor
Australia	Regulación integrada y proactiva	Alta: AOPs, membranas, tratamientos avanzados	CE y patógenos considerados explícitamente
Asia – Japón	Regulación preventiva y progresiva	Media–alta: tecnologías avanzadas eficientes	CE incluidos en monitoreo ambiental; ARB/ARG en políticas AMR
Asia – China	En desarrollo / fortalecimiento	Media: mejoras en tratamiento de aguas	CE reconocidos en listas prioritarias ambientales; ARB/ARG no regulados formalmente
Asia – India / Sudeste Asiático	Regulación incipiente	Baja–media: tratamientos convencionales	CE, ARB y ARG no regulados formalmente

EDAR: Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales; CE: Contaminantes emergentes; ARB: Bacterias resistentes; ARG: Genes de resistencia; AOPs: Oxidación avanzada.

Europa

En Europa, el desarrollo de la legislación ha sido pionero en este campo. Desde el año 2000, con la Directiva Marco del Agua se sientan las bases para la mejora de la calidad de agua vertida al medio ambiente. En los años siguientes diferentes Directivas Europeas han direccionado y reconocido la necesidad de monitorear ciertas sustancias como indicadoras del riesgo medioambiental. Esta preocupación es visiblemente más explícita en la recientemente publicada TARU (Directiva Europea de Tratamiento de Aguas Residuales Urbanas), que amplía los niveles de exigencia al proponer la incorporación de procesos "cuaternarios" en depuradoras que atienden a más de 150.000 habitantes-equivalentes y de más de 10.000 habitantes-equivalentes en las declaradas zonas sensibles a CE (Parlamento Europeo y del Consejo de la Unión Europea, 2024). Es decir, se exige la implementación de tecnologías avanzadas que favorezcan la eliminación de CE procedentes tanto de las industrias farmacéutica y cosmética, como de nuestros hogares, en lugares con alto riesgo de contaminación, considerando que las grandes aglomeraciones urbanas contribuirían de significativa a la incorporación de estas sustancias al agua.

La Directiva TARU hace especial hincapié en la vigilancia de agentes patógenos entre ellos, ARB y ARG, con el fin de recopilar información para la toma de medidas de control. Como novedad, la Directiva TARU, incluye además el principio de Responsabilidad Ampliada al Productor (RAP) que hace referencia a la obligatoriedad para los fabricantes de participar en la financiación requerida para la implementación de dichas tecnologías. Este modelo sigue el enfoque "quien contamina paga", que extiende la responsabilidad a toda la cadena de valor, asegurando que los sectores que generen estos contaminantes participen en su mitigación y reduciendo así el impacto ambiental y sanitario de las aguas residuales urbanas. De hecho, se propone que las empresas farmacéuticas y cosméticas financien mínimo un 80% del coste de la implantación de las nuevas tecnologías (Parlamento Europeo y del Consejo de la Unión Europea, 2024). En este sentido, la Directiva TARU representa tanto un reto como una oportunidad para la evolución de los tratamientos en las EDAR pues obliga a implementar tratamientos cuaternarios que implicarían altos costos de inversión y operación. La adaptación de las EDAR a estos nuevos requisitos también supone un desafío tecnológico, ya que se necesita desarrollar procesos más eficaces, sostenibles y económicamente viables. Además, el principio "quien contamina, paga" demanda una estrecha colaboración entre industrias, administraciones y operadores de infraestructuras de saneamiento, así como una revisión de las vías de financiamiento para asegurar que los recursos estén disponibles para cumplir con estas nuevas exigencias.

Estados Unidos

En Estados Unidos, la Agencia de Protección Ambiental (Environmental Protection Agency - EPA) ha identificado a los contaminantes emergentes -incluidos productos farmacéuticos y de cuidado personal (Pharmaceuticals and Personal Care Products - PPCPs) - como una preocupación

creciente en el tratamiento de aguas residuales, debido a su detección continua en aguas superficiales y su potencial impacto sobre la vida acuática (EPA, 2025). Esto ha impulsado investigaciones para evaluar y desarrollar criterios de calidad y tecnologías más eficaces de tratamiento, como la adsorción con carbón activado o procesos de oxidación avanzada (POA), especialmente porque los tratamientos convencionales no eliminan completamente estos compuestos. La EPA y los estados pueden imponer límites de vertido y requisitos de monitoreo para CE mediante permisos del sistema nacional de eliminación de contaminantes (National Pollutant Discharge Elimination System - NPDES), aunque aún no existe una definición regulatoria federal exclusiva para todos los CE.

América Latina

La legislación ambiental relacionada con los CE en América Latina, se encuentra aún en una fase incipiente. La mayoría de los países han enfocado sus regulaciones en parámetros tradicionales de calidad de aguas y lodos, como la demanda biológica de oxígeno (DBO), demanda química de oxígeno (DQO), metales pesados y nutrientes, sin integrar oficialmente a los CE en sus normativas (Real *et al.*, 2021). A pesar de ello, se evidencian avances significativos en términos de investigación científica, estudios piloto y formulación de políticas, muchas veces impulsados por la cooperación internacional. A nivel nacional, algunos países han comenzado a abordar el tema desde el ámbito académico y técnico. En Colombia, aunque el Decreto 631 de 2015 regula los vertimientos, no incluye los CE, pero el país ha participado en iniciativas internacionales como GEMS/Water, y estudios han detectado antibióticos y hormonas en aguas y lodos (Guataquira Rincón *et al.*, 2023). México tampoco cuenta con legislación específica, pero tanto CONAGUA como instituciones académicas han realizado monitoreos y desarrollado guías técnicas (Jocobo-Marín y Santacruz de León, 2021). En Brasil, la Resolución CONAMA 375/2006 regula lodos, sin contemplar CE, aunque entidades como CETESB han impulsado estudios sobre fármacos y disruptores endocrinos. En Chile, Perú y Argentina también se han identificado diversos CE en aguas tratadas y lodos, y si bien Argentina cuenta con normativas voluntarias sobre biosólidos, estas aún no consideran los CE (Reichert *et al.*, 2019).

Asia

Asia combina casos de regulación avanzada (Japón, Singapur) con regiones donde el control de CE y resistencia antimicrobiana es aún incipiente,

- **Japón**, es el país más avanzado el gobierno ha tomado medidas proactivas en cuanto al tratamiento de CE en aguas residuales. En el Plan de Acción Nacional para la Gestión del Agua, Japón ha establecido medidas para reducir la presencia de contaminantes como los productos farmacéuticos y los químicos industriales en el agua tratada. Además, el gobierno japonés ha comenzado a integrar los CE en su legislación ambiental, a través de nuevas normativas que requieren la

monitorización de productos farmacéuticos y sustancias peligrosas en las aguas residuales (AMR One Health Surveillance Committee, 2024; Government of Japan, 2023; Suzuki *et al.*, 2021)

- **China** ha fortalecido su legislación ambiental en la última década, incluyendo listas de sustancias prioritarias y mejoras en tratamiento de aguas, pero los CE y ARG aún se abordan más desde la investigación que desde límites regulatorios específicos (Han *et al.*, 2023; Water Pollution Prevention and Control Law of the People's Republic of China).
- **India y el Sudeste Asiático** presentan regulaciones centradas en parámetros convencionales (DBO, DQO, nutrientes), con escasa inclusión formal de CE, ARB y ARG (Bombaywala *et al.*, 2021; Mohapatra *et al.*, 2016).

Australia

En Australia, el gobierno ha adoptado un enfoque integral en la regulación de los CE. La Agencia Nacional de Gestión del Agua (ANA) ha establecido un marco normativo que regula la calidad de las aguas residuales tratadas, con un enfoque en la eliminación de CE. Este marco aboga por el uso de tecnologías avanzadas como oxidación avanzada (Advanced Oxidation Processes - AOPs) y filtración por membranas para eliminar productos farmacéuticos, químicos industriales y microorganismos patógenos. En varias ciudades australianas, se están realizando investigaciones pioneras sobre los efectos de los CE en la salud humana y el ecosistema, lo que ha impulsado una legislación más estricta en torno a la calidad del agua tratada (Australian Water Quality Management Strategy, 2007; Saaristo *et al.*, 2023).

Hacia un Futuro Sostenible y Consciente desde una perspectiva *One Health*

Desde la perspectiva *One Health*, es fundamental reconocer que la salud humana, la salud animal y la salud ambiental están interconectadas y deben abordarse de manera conjunta. La presencia de antibióticos, ARB y ARG en el agua no solo representa un riesgo para las personas, sino que también impacta a la fauna, la flora y los ecosistemas acuáticos (Wang *et al.*, 2024). La propagación de la resistencia antimicrobiana es un problema global que requiere soluciones integradas, donde la vigilancia ambiental se combine con estrategias de mitigación en salud y producción agropecuaria (OECD, 2023). Así, el reto de los CE exige una respuesta multifacética que integre tecnología avanzada, políticas regulatorias robustas y, sobre todo, una transformación en la conciencia ciudadana. La sinergia entre proyectos como EMERGENTcy y eventos de vanguardia como la Directiva TARU abre el camino hacia un modelo de gestión del agua que priorice la salud pública y la protección del medio ambiente.

EMERGENTcy: Un aporte multifacético a la resolución del Problema

El proyecto EMERGENTcy (EFA 37/01) se concibe como un caso de estudio aplicado para analizar la presencia, dinámica y mitigación de antibióticos, CE, ARB y ARG en el ciclo urbano del agua en un contexto transfronterizo europeo. EMERGENTcy es una iniciativa de cooperación territorial, el proyecto funciona como un laboratorio a escala real que integra monitorización ambiental, análisis del resistoma, evaluación de tecnologías de tratamiento y análisis regulatorio bajo el marco *One Health*. Su principal fortaleza radica en la combinación de química analítica de alta resolución, microbiología clásica y metagenómica shotgun, junto con la evaluación comparativa de diferentes configuraciones de EDAR y estrategias de tratamiento avanzado. Este enfoque multidisciplinar permite no solo describir la ocurrencia de CE, ARB y ARG, sino también evaluar su comportamiento a lo largo de la línea de aguas y de fangos, así como identificar puntos críticos de control. El proyecto se estructura en cuatro ejes complementarios —diagnóstico, eliminación, sensibilización y gobernanza— orientados a generar evidencia científica transferible a la gestión del saneamiento y a la implementación de marcos regulatorios emergentes como la nueva Directiva europea sobre tratamiento de aguas residuales urbanas.

Eje 1, Diagnóstico: Detección Cuantificación de CE, ARB y ARG

Esta acción se centra en el diagnóstico del estado del CUA mediante la cuantificación de CE, ARB y ARG en redes de saneamiento y en EDAR, así como en los ríos receptores de cinco localidades estratégicas del territorio POCTEFA (Programa INTERREG España-Francia-Andorra). Para lograrlo, se estableció una red de 45 puntos de muestreo, diferenciando zonas de descarga puntual o centralizada (hospitales, residencias de mayores, clínicas veterinarias, industria farmacéutica y mataderos) y áreas de posible descarga difusa asociadas a vertidos domésticos (Tabla 5). Se llevaron a cabo cuatro campañas de muestreo: dos en verano (septiembre de 2024 y septiembre de 2025) y dos en invierno (febrero de 2025 y febrero de 2026). Además, se realizó un análisis comparativo en las mismas campañas de las aguas a la entrada y salida de las EDAR, así como del fango generado durante el proceso de depuración, lo que permite evaluar la eficiencia del tratamiento, la distribución de CE, ARB y ARG en la fase líquida o sólida y estimar el posible impacto de los efluentes y fango sobre los ecosistemas.

Paralelamente, fue necesario establecer un conjunto representativo de antibióticos y de ARB que permitiera realizar un seguimiento sistemático a lo largo del CUA. Se realizó una revisión bibliográfica de los reportes científicos sobre los antibióticos detectados en los efluentes de las EDAR en España entre 2013-2024. La información se recopiló mediante búsquedas bibliográficas y consultas de artículos científicos de revistas nacionales e internacionales. Las fuentes se consultaron a través de las bases de datos SCOPUS, SCIELO y Google Scholar, utilizando las palabras clave «Antibiotics» AND «Wastewater» AND «Spain» desde enero de 2013 hasta enero de 2024. En total, se incluyeron 25 publicaciones, centradas en estudios de química analítica,

Tabla 5. Tipos de puntos de muestreo y propósito de cada uno

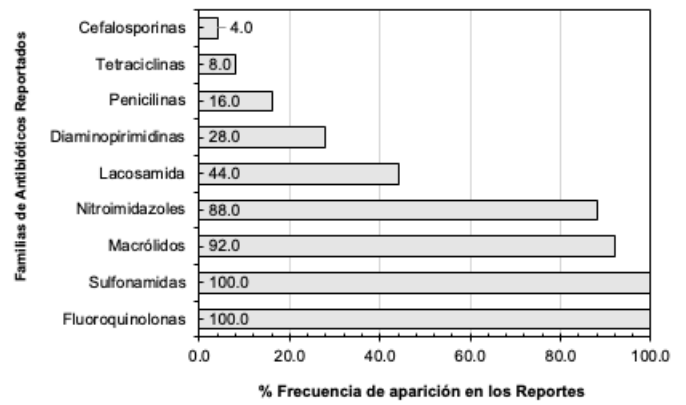
Tipo de punto de muestreo	Origen / Localización	Descripción	Objetivo del muestreo
Descarga puntual	Hospitales, residencias de mayores, clínicas veterinarias, industria farmacéutica, mataderos	Zonas de vertido concentrado con potencial alta carga de antibióticos, CE, ARB y ARG	Identificar focos específicos de contaminación
Descarga difusa	Áreas urbanas con vertidos domésticos	Aportes no centralizados procedentes de la actividad urbana general	Evaluar la presión urbana difusa sobre el ciclo del agua
EDAR – Afluente	Entrada a la estación depuradora	Aguas residuales antes del tratamiento	Caracterizar la carga contaminante entrante
EDAR – Efluente	Salida de la estación depuradora	Aguas residuales tras el tratamiento y fango generado	Evaluar la eficiencia de eliminación de contaminantes
Río – Aguas arriba de EDAR	Tramo fluvial previo al vertido	Punto de referencia del estado del río sin influencia directa de la EDAR	Establecer condiciones de ecosistema fluvial
Río – Aguas abajo de EDAR	Tramo fluvial posterior al vertido	Zona influenciada por el efluente tratado	Estimar el impacto del vertido sobre los ecosistemas fluviales

CE: Contaminantes emergentes; ARB: Bacterias resistentes; ARG: Genes de resistencia; EDAR: Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales.

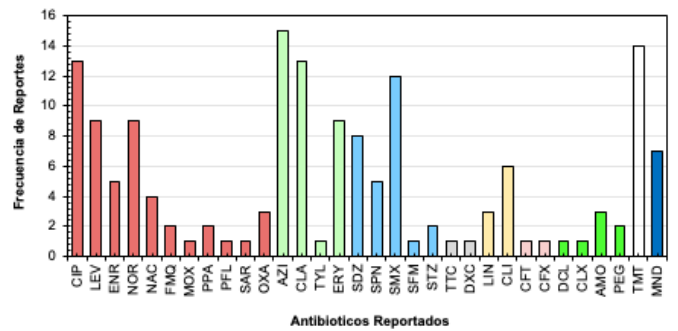
informes de diagnóstico del estado de las aguas y artículos sobre estrategias de remediación del agua. La Tabla S1 (material suplementario) resume las referencias revisadas en relación con la presencia de antibióticos en los efluentes de las EDAR. A partir de estos datos, surgieron dos hallazgos clave: en primer lugar, la diferencia en la frecuencia de detección entre las distintas familias de antibióticos; y, en segundo lugar, la frecuencia de detección de antibióticos individuales.

Tabla 6. Abreviaturas de los antibióticos detectados.

Fluoroquinolonas		Macrólidos		Tetraciclinas		Penicilinas	
Ciprofloxacina	CIP	Azitromicina	AZI	Tetraciclina	TTC	Dicloxacilina	DCL
Ofloxacina	OFX	Claritromicina	CLA	Doxiciclina	DXC	Cloxacilina	CLX
Levofloxacina	LEV	Tilosina	TYL	Lincosamidas		Amoxicilina	AMX
Enrofloxacin	ENR	Eritromicina	ERY	Lincomicina	LIN	Penicilina-G	PE-G
Norfloxacina	NOR			Clindamicina	CLI	Diaminopirimidinas	
Ácido Nalidixico	NAC	Sulfonamidas		Cefalosporinas		Trimetoprima	TMT
Flumequina	FMQ	Sulfadiazina	SDZ	Cefotaxima	CFT	Nitroimidazoles	
Ácido Piperazínico	PPA	Sulfonapiridina	SPN	Cefalexina	CFX	Metronidazol	MND
Pefloxacina	PFL	Sulfametoxazol	SMX				
Sarafloxacina	SAR	Sulfametazina	SFM				
Ácido Oxolínico	OXA	Sulfatiazol	STZ				



A: Frecuencia de aparición de familias de antibióticos en los informes.



B: Frecuencia de aparición de antibióticos individuales en los informes.

Figura 1. Antibióticos detectados en efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) en España (enero 2013–enero 2024, basado en una revisión de bases de datos científicas: SCOPUS, SCIELO y Google Scholar).

La Figura 1 muestra la frecuencia con la que se detectan las familias de sustancias con actividad antibiótica en los efluentes de las EDAR, en la Tabla 6 se muestran las abreviaturas de los antibióticos encontrados. Las fluoroquinolonas junto con las sulfonamidas son los grupos de sustancias con actividad antibiótica detectados con mayor frecuencia en los efluentes de las EDAR, el 100 % de los estudios revisados las reportan. Se registran valores altos para dos familias: macrólidos (92,0 %) y nitroimidazoles (88,0 %). En contraste, se registraron frecuencias de detección mucho menores para las familias de las lincosamidas (44,0 %), las diaminopirimidinas (28,0 %), las penicilinas (16,0 %),

las tetraciclinas (8,0 %) y las cefalosporinas (4,0 %). Es importante señalar que la información obtenida en esta revisión bibliográfica muestra únicamente una “fotografía” específica de la contaminación por antibióticos, ya que los resultados dependen no solo de la presencia de estos compuestos, sino también de la selección de las sustancias analizadas en cada estudio. No obstante, se trata de información útil, ya que permite identificar tendencias sobre la persistencia de antibióticos en los efluentes de las EDAR.

Seguidamente, IPREM (Instituto de Ciencias Analíticas y Físicoquímica para el Medio Ambiente y los Materiales) llevó a cabo un cribado preliminar de las aguas de entrada y salida de dos EDAR del territorio POCTEFA. En este cribado se identificaron 143 compuestos farmacéuticos, incluidos fármacos parentales, metabolitos activos y productos de transformación, como se detalla en la Tabla S2. El análisis de estas sustancias mostró una amplia diversidad química, predominando los antibióticos (27,8%), seguidos de analgésicos y antiinflamatorios (16%), psicofármacos (14%), fármacos antiepilépticos (12%), cardiovasculares y anticoagulantes (15%), estatinas y fibratos (3%), antifúngicos y antiparasitarios (4%), drogas de abuso y estimulantes (6%) y otros compuestos emergentes, incluyendo cosméticos y medios de contraste. La fracción que corresponde a los antibióticos, se distribuye entre fluoroquinolonas (35%), macrólidos (25%), sulfonamidas (20%), penicilinas y derivados (12%) y otras familias (8%).

Estas tendencias encuentran respaldo en la Lista de Observación de contaminantes en España (LO 2015–2024) en la que las fluoroquinolonas, sulfonamidas y macrólidos constituyen las familias más recurrentes (Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico (MITECO), 2025). En contraste, antibióticos pertenecientes a las penicilinas, tetraciclinas y lincosamidas muestran una representación limitada en la Lista de Observación, en línea con las menores frecuencias de detección descritas en la literatura y confirmadas por el cribado IPREM. En este sentido, para el proyecto EMERGENTcy se propuso hacer el seguimiento a 20 antibióticos (Tabla S3) mediante Cromatografía Líquida de Ultra Rendimiento (Ultra Performance Liquid Chromatography - UPLC) acoplada a LC-MS/MS. La preparación de las muestras siguió un protocolo estandarizado basado en la metodología EPA 1694: “Pharmaceuticals and Personal Care Products in water, soil, solid, and biosolids by HPLC/MS/MS”, adaptados a un sistema automatizado de extracción.

Un segundo método de cuantificación fue implementado por la Universidad de Zaragoza mediante la validación de kits ELISA comerciales para la detección de familias específicas de antibióticos. Parámetros críticos como los límites de detección y cuantificación, los rangos de concentración lineales, el porcentaje de recuperación (%R) y la repetibilidad (%RSD) fueron evaluados rigurosamente para los kits ELISA: Total Sulfonamides ELISA Kit para sulfonamidas (ELISA-SFN-001, Biopanda), Beta-lactam Antibiotic ELISA Kit para β -lactámicos (MBS2568060, MyBiosource), Azithromycin ELISA Kit para azitromicina (ELISA-AZM-001, Biopanda) y Quinolones ELISA Kit (Two-step procedure) para quinolonas (ELISA-QLN-002, Biopanda), garantizando así la sensibilidad, especificidad y reproducibilidad necesarias para el

seguimiento de antibióticos en matrices ambientales.

Por su parte, desde la Universidad de Navarra se eligieron siete patógenos bacterianos incluidos en la lista de bacterias farmacorresistentes más peligrosas para la salud humana de la OMS (WHO, 2024b). Tres corresponden al grupo de prioridad crítica: *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenems, *Enterobacterias* resistentes a tercera generación de cefalosporinas y *Enterobacterias* resistentes a carbapenems y, cuatro al grupo de prioridad elevada: *Salmonella* resistente a quinolonas, *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina, *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem y *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Por tanto, fue necesario desarrollar protocolos de aislamiento con distintos medios de cultivos, que fueron validados usando cepas resistentes a antibióticos procedentes de la colección del Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Aguas de la Universidad de Navarra (Colección Española de Cultivos Tipo (CECT), ambientales y clínicas). A modo de resumen, la Tabla S4 muestra los medios de cultivo para el aislamiento de las bacterias resistentes de interés y los criterios de selección empleados.

Finalmente se definió la metodología de análisis más adecuada para la caracterización de genes de resistencia en las muestras de agua y fango. Tras evaluar distintas aproximaciones, Hospital Universitario de Navarra -Navarrabiomed (HUN-NBM) optó por un enfoque basado en metagenómica tipo *shotgun* como herramienta central con el objetivo de detectar ARGs (Joseph y Pe'er, 2021), excluyendo la resistencia debida a mutaciones en genes diana de los antibióticos como mecanismo de resistencia (Andersson *et al.*, 2021). Para ello se optimizaron las técnicas para la extracción de ADN para distintos tipos de muestra. Para Fangos se utilizó el kit DNeasy PowerSoil Pro (Qiagen), para aguas claras se usó el kit DNeasy PowerWater (Qiagen) y para aguas turbias se usó un pretratamiento mediante centrifugación y se utilizó el kit DNeasy PowerSoil Pro (Qiagen), para aguas claras se usó el kit DNeasy PowerWater (Qiagen) y para aguas turbias se realizó un pretratamiento mediante centrifugación y se utiliza el kit DNeasy PowerSoil Pro (Qiagen). Se validó el uso de secuenciación Illumina utilizando el equipo MiSeq como tecnología de referencia, realizando ensayos con diferentes concentraciones de biblioteca, preparadas con el kit Illumina DNA Prep, para garantizar lecturas de alta calidad. Las pruebas realizadas incluyeron control de calidad, cuantificación por Qubit y validación del tamaño mediante QIAxcel. Para el Análisis bioinformático del resistoma, se tuvo en cuenta las recomendaciones del borrador de la directiva 3019/2024. El primer paso fue realizar un control de calidad y recorte de las lecturas de baja calidad utilizando la herramienta Trimmomatic v 0.40 (Bolger *et al.*, 2014), después se retiró el ADN humano (referencia GRCh38) con la herramienta Bowtie2 (Langmead *et al.*, 2009). Tras la adecuación de las lecturas se utilizó MEGAHIT (Nurk *et al.*, 2017) para ensamblar los genomas. Con el genoma metaensamblado se detectaron los ARGs utilizando diferentes estrategias y distintos programas; mediante Abricate v 1.0.1 (Seemann, 2016) y con las bases de datos ResFinder (actualizada el 9/01/2026) y CARD (actualizada el 9/01/2026) y mediante ResFinder v 4.7.2 con la base de datos a 22/02/2024 se

contrastaron las secuencias ensambladas con las secuencias de dichos programas con el criterio de % de identidad $\geq 80\%$ y el % de cobertura del gen $\geq 30\%$. Se utilizó rgi (CARD en interfaz de línea de comando) (Alcock *et al.*, 2023), el criterio de detección de genes de resistencia de CARD es mediante puntuación por cada nucleótido de la secuencia. Además, se utilizó la herramienta DeepARG v 0.18 esta herramienta es capaz de detectar nuevos genes de resistencia ya que funciona con una Inteligencia artificial (IA) entrenada (Arango-Argoty *et al.*, 2018). A las secuencias metaensambladas se les realizó una agrupación de secuencias (*binnig*) con MeraBAT2 v 2.12.1 organizando dichas secuencias en bins, distintas secuencias que componen entre si un metagenoma ensamblado (Metagenome-Assembled Genome - MAG en inglés) (Kang *et al.*, 2019). El metagenoma ensamblado contiene secuencias relacionadas entre sí. Por último, a dichos MAGs se les sometió a una clasificación taxonómica con Kraken2 v 2.17.1 (Wood y Salzberg, 2014) y Bracken v 3.0.1 (Lu *et al.*, 2017) para la identificación taxonómica de las lecturas. Mientras que Kraken2 consigue asignar lecturas a diferentes niveles de la clasificación taxonómica, Bracken toma los resultados de kraken2 y reasigna las lecturas asignadas a el taxón más específico que se le indique, en este caso, especie. Se utilizó la base de datos de kraken2 standard, actualizada a 25/10/2025. El proceso bioinformático sigue el mismo flujo que el que aparece en el esquema de la Figura 2.

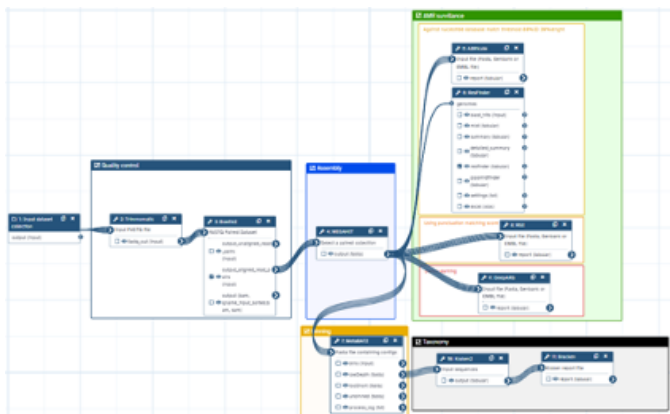


Figura 2. Visualización del esquema del flujo bioinformático utilizado. Esquema obtenido a través de Galaxy server (Abueg *et al.*, 2024).

Eliminación de CE, ARG y ARB

El segundo eje del proyecto EMERGENTcy está enfocado en evaluar y mejorar la eliminación de CE, ARB y ARG en el ciclo urbano del agua. Este eje se estructura en dos tareas complementarias: (i) la evaluación del papel de los procesos de depuración convencionalmente implementados en las EDAR, considerando de manera integrada la línea de aguas y la línea de fangos, y (ii) el estudio y desarrollo de tratamientos avanzados, basados principalmente en POA, como estrategias complementarias para la mitigación de estos contaminantes.

Eje 2: Rol de procesos convencionales en la eliminación de CE, ARB y ARG.

Diversos estudios han puesto de manifiesto que las EDAR actúan como puntos críticos dentro del ciclo urbano del agua, donde los CE, ARB y ARG pueden ser parcial o selectivamente eliminados, transformados o redistribuidos entre las distintas fases del tratamiento (Oberoi *et al.*, 2019; Rizzo *et al.*, 2013; Tran *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2020). Con el fin de establecer un marco de referencia para su análisis, se realizó una revisión bibliográfica sobre el comportamiento de CE, ARB y ARG a lo largo de los procesos de depuración convencionalmente implementados en EDAR. A partir de esta revisión, los procesos se agruparon en cuatro categorías operativas (T1–T4), representativas de las principales etapas del tratamiento.

La categoría T1 comprende las etapas de pretratamiento y decantación primaria, diseñadas fundamentalmente para la eliminación de sólidos gruesos, arenas, grasas y una fracción de los sólidos en suspensión, lo que conlleva una reducción inicial de la carga orgánica. Aunque la eliminación directa de CE en esta etapa suele ser limitada, se ha observado que aquellos compuestos con mayor afinidad por la materia particulada pueden ser parcialmente removidos mediante procesos de sedimentación y su transferencia a los lodos primarios (Hörsing *et al.*, 2011; Jelic *et al.*, 2011). De manera similar, ARB y ARG pueden asociarse a partículas sólidas y ser parcialmente retenidos en esta fase, favoreciendo su transferencia hacia la línea de fangos más que su eliminación efectiva del sistema (Gao *et al.*, 2012; Munir *et al.*, 2011; Rizzo *et al.*, 2013; J. Wang *et al.*, 2020).

Posteriormente, el efluente procedente de T1 es conducido a los procesos biológicos, agrupados en la categoría T2, cuyo objetivo principal es la eliminación de la materia orgánica disuelta y biodegradable remanente y, en algunos casos, la reducción de nutrientes. Estos tratamientos se basan en la actividad metabólica de comunidades microbianas e incluyen sistemas de biomasa en suspensión, como los fangos activos; sistemas de biomasa adherida, como los filtros percoladores y decantadores tipo Imhoff; así como configuraciones híbridas tipo lodos activados de película fija integrada (Integrated Fixed-Film Activated Sludge - IFAS). Durante esta etapa puede producirse una degradación parcial de determinados CE, en función de su estructura química y biodegradabilidad. No obstante, la elevada densidad microbiana, la presencia de antibióticos a concentraciones subinhibitorias y la ocurrencia de procesos de transferencia horizontal de genes convierten a esta etapa en un entorno crucial de estudio para determinar la persistencia e incluso la amplificación de ARB y ARG. Como consecuencia de esta la actividad biológica en esta etapa, se generan lodos secundarios, que actúan como un importante reservorio de ARB y ARG y son transferidos a la línea de fangos tras la decantación secundaria (Ferreira *et al.*, 2016; Oberoi *et al.*, 2019; Polesel *et al.*, 2016; Rizzo *et al.*, 2013; Samaras *et al.*, 2013; Tiwari *et al.*, 2017).

En función de las características del cuerpo receptor y de los requisitos normativos de vertido, algunas EDAR incorporan sistemas de afino o tratamiento terciario, agrupados en la categoría T3. Esta categoría incluye principalmente

humedales artificiales y lagunas de estabilización, que actúan como etapas complementarias de depuración mediante procesos físicos, químicos y biológicos de carácter natural. Estos sistemas pueden contribuir a una reducción adicional de determinados CE, así como de microorganismos indicadores y patógenos, incluidos ARB, a través de mecanismos como la sedimentación, la fotodegradación, la depredación microbiana y la inactivación ambiental (Ávila *et al.*, 2017; Bernharthorton *et al.*, 2023; Chen *et al.*, 2023; Huang *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2019; McConnell *et al.*, 2018). Sin embargo, la eliminación de ARG en esta etapa suele ser parcial y altamente dependiente de las condiciones ambientales y de diseño (Chen *et al.*, 2016; Miller y Chin, 2005; Molleda *et al.*, 2008; Muoghalu *et al.*, 2025).

Finalmente, algunas EDAR incorporan procesos avanzados de tratamiento o tratamiento cuaternario, agrupados en la categoría T4, específicamente orientados a la eliminación de contaminantes emergentes presentes en el efluente a concentraciones bajas. En las instalaciones seleccionadas, esta categoría incluye la microfiltración, que actúa como una barrera física adicional capaz de retener partículas finas, microorganismos y, en cierta medida, material genético extracelular. La literatura ha demostrado que los tratamientos avanzados basados en membranas pueden lograr reducciones significativas de ARB y ARG, así como mejorar la eliminación global de CE cuando se integran como etapas posteriores a los tratamientos biológicos convencionales (Anis *et al.*, 2019; Hiller *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2022).

Con base en esta revisión, de las diez EDAR muestreadas para el eje de diagnóstico en el proyecto EMERGENTcy, se seleccionaron siete localizadas en el territorio POCTEFA, Tabla 7, EDAR no sombreadas. Dichas instalaciones

presentan configuraciones de tratamiento y capacidades operativas diversas y resultan representativas de las condiciones regionales.

En paralelo a la evaluación de la línea de aguas (T1-T4), se identificaron puntos estratégicos en la línea de fangos para el seguimiento de CE, ARB y ARG. La literatura científica ha señalado que la línea de fangos constituye un compartimento relevante dentro de las EDAR, debido a la partición preferencial de numerosos contaminantes emergentes hacia la fracción sólida y a la asociación de ARB y ARG con las matrices particuladas. Estos procesos favorecen su transferencia y persistencia en los lodos generados durante las etapas de sedimentación primaria y secundaria (Michael *et al.*, 2013; Rizzo *et al.*, 2013). Con el fin de evaluar su comportamiento a lo largo de los procesos de estabilización, se seleccionaron dos EDAR de la región POCTEFA para el seguimiento detallado de los tratamientos de fangos (Tabla 8). En esta región, las tecnologías más implantadas incluyen el espesamiento, la digestión anaerobia, régimen mesófilo y termófilo, la estabilización aerobia, la deshidratación mecánica mediante centrifugación o filtros prensa y, en determinados casos, el secado solar o los procesos de compostaje para su valorización agrícola. La digestión anaerobia mesófila constituye una de las opciones predominantes debido a su capacidad para estabilizar la materia orgánica y permitir la recuperación energética mediante la producción de biogás; sin embargo, diversos estudios han indicado que, aunque estos procesos reducen la carga microbiana global y transforman parcialmente ciertos CE, la eliminación de ARG y compuestos persistentes puede ser incompleta y dependiente de las condiciones operativas (Liu *et al.*, 2024; Poorasgari, 2022; Wang *et al.*, 2024). Este comportamiento

Tabla 7. Características de EDAR elegidas para la evaluación de la eliminación de CE, ARB y ARG por etapas de tratamiento en la línea de aguas.

Nº EDAR	Hab. Equiv.	Tipo de tratamiento	T1	T2	T3	T4
1	26.000	T1-T2-T4	PT + DP	Fangos activos	-	Microfiltración
2	110.000	T1-T2	PT + DP	Fangos activos	-	-
3	100.000	T1-T2	PT + DP	Filtros percoladores	-	-
4	600.000	T1-T2	PT + DP	Fangos activos	-	-
5	13.000	T1-T2	PT	Fangos activos	-	-
6	120.000	T1-T2	PT + DP	Fangos activos	-	-
7	35.000	T1-T2-T3	PT + DP	Filtros percoladores	Lagunas	-
8	12.000	T1-T2-T3	PT	IFAS + filtro percolador	Lagunas	-
9	340	T1-T2-T3	Imhoff	Din don	Humedal	-
10	22.000	T1-T2	PT	IFAS	-	-

EDAR: Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales; Hab Equiv: Habitante Equivalente; T1: Tratamiento Primario; T2: Tratamiento Secundario; T3: Tratamiento Terciario; T4: Tratamiento Cuaternario; PT: Pretratamiento; DP: Decantación Primaria; IFAS: Lodos Activados de Película Fija Integrada.

Tabla 8. EDAR elegidas para la evaluación de la eliminación de CE, ARB y ARG y tratamientos en la línea de fangos de interés.

Nº EDAR	Hab. Equiv.	Tipo de tratamientos
3	100.000	Espesadores-Digestión Anaerobia Mesófila- Deshidratación-Compostaje-Secado Solar
4	600.000	Espesadores-Digestión Anaerobia Mesófila (Escala Piloto)

EDAR: Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales; Hab Equiv: Habitante Equivalente.

refuerza la necesidad de analizar la dinámica de CE, ARB y ARG en la línea de fangos y su posible contribución a la dispersión ambiental asociada a la gestión final de biosólidos.

Evaluación y desarrollo de nuevos tratamientos

Como segunda tarea del Eje 2, el proyecto EMERGENTcy aborda la evaluación y el desarrollo de tratamientos avanzados orientados a la eliminación de contaminantes CE, ARB y ARG. En este contexto, el estudio se centra en POA como herramientas clave para superar las limitaciones de los tratamientos convencionales. Estos procesos se basan en la generación de especies altamente reactivas, principalmente especies activas de oxígeno, capaces de oxidar compuestos orgánicos persistentes y de provocar daños estructurales en microorganismos resistentes, así como la degradación del material genético (Brillas, 2020; Dewil *et al.*, 2017; Fernández-Castro *et al.*, 2015; Garrido-Cardenas *et al.*, 2020; Jojoa-Sierra *et al.*, 2024; Sirés *et al.*, 2014). Entre las tecnologías consideradas dentro de este eje se incluyen la fotocatalisis heterogénea basada en dióxido de titanio (TiO₂) o procesos de ozonización, en ambos casos en conjunto con carbón activo. La literatura científica ha demostrado que estas tecnologías presentan una elevada eficacia en la degradación de CE y en la inactivación de ARB y ARG, especialmente cuando se integran como tratamientos avanzados al finalizar los procesos de depuración o como pretratamientos (Altmann *et al.*, 2014; Bourgin *et al.*, 2018; Lakovides *et al.*, 2019; Issaka *et al.*, 2022; Knopp *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2017; Simonetti *et al.*, 2016; Yue *et al.*, 2024).

Un elemento central del enfoque adoptado en el Eje 2 de EMERGENTcy es la evaluación de la aplicación de POA en salidas de EDAR, pero también en origen, es decir, en corrientes específicas previas a la entrada de las aguas residuales en las EDAR. Esta última estrategia permite actuar sobre matrices con mayores concentraciones de contaminantes y menores volúmenes de agua, evitando su dilución en el sistema de saneamiento y mejorando de forma significativa la viabilidad técnica y económica de los tratamientos avanzados (Miklos *et al.*, 2018; Moles *et al.*, 2020). La aplicación temprana de estos procesos podría contribuir en reducir la carga de CE, ARB y ARG que se alcanza en las EDAR, limitando su acumulación en la línea de fangos y mejorando la eficiencia global del sistema de depuración.

Ejes 3 y 4: Sensibilización y Regulación de los CE:

El tercer eje del proyecto EMERGENTcy aborda la dimensión social y normativa de la problemática asociada a los CE y a la resistencia antimicrobiana en el ciclo urbano del agua. Diversos organismos internacionales han señalado que la falta de conocimiento y concienciación sobre el uso inadecuado de antibióticos y su impacto ambiental constituye uno de los principales factores que contribuyen a la persistencia y diseminación de la resistencia antimicrobiana (WHO, 2015, 2024a) En este contexto, los estudios sociológicos desarrollados en el marco de EMERGENTcy confirman que, a

pesar de la creciente atención científica y mediática, persiste un desconocimiento generalizado en la población acerca del destino ambiental de los antibióticos y otros fármacos, así como de su relación con la aparición de bacterias resistentes.

Este eje pone de manifiesto la necesidad de reforzar la educación ambiental y sanitaria como herramientas esenciales para promover cambios en el comportamiento individual y colectivo, fomentando un uso más responsable de los antibióticos y una gestión más sostenible del agua. La evidencia disponible indica que las estrategias basadas únicamente en soluciones tecnológicas resultan insuficientes si no se acompañan de acciones educativas y de marcos regulatorios adecuados que limiten la liberación de estos compuestos al medio ambiente (WHO, 2014, 2015).

Asimismo, el cuarto eje contribuye al impulso de políticas públicas y normativas que integren explícitamente la resistencia antimicrobiana en la planificación y gestión de los sistemas de saneamiento. En particular, la incorporación de criterios relacionados con la presencia de ARB y ARG en las aguas residuales y en el medio receptor resulta fundamental para avanzar hacia una gobernanza del agua más robusta. Este planteamiento se alinea con el enfoque *One Health*, promovido por organismos internacionales, que reconoce la interdependencia entre la salud humana, animal y ambiental y subraya la necesidad de respuestas coordinadas frente a la resistencia antimicrobiana (FAO, 2022). En conjunto, estos ejes refuerzan la idea de que la mitigación efectiva de la resistencia antimicrobiana en el ciclo urbano del agua requiere no solo avances científicos y tecnológicos, sino también una ciudadanía informada y marcos normativos que incorporen la dimensión ambiental de la resistencia como un elemento central de la salud pública global.

Conclusiones

La presencia de antibióticos, ARB y ARG en el ciclo urbano del agua representa un desafío ambiental y sanitario de creciente relevancia. La evidencia científica revisada y los resultados preliminares obtenidos en el marco del proyecto EMERGENTcy confirman que, aunque los sistemas convencionales de depuración permiten reducciones parciales, estos procesos no fueron diseñados específicamente para la eliminación de contaminantes emergentes ni determinantes genéticos de resistencia, lo que favorece su persistencia en efluentes y lodos.

Desde el punto de vista analítico, la integración de técnicas instrumentales de alta resolución, metodologías moleculares avanzadas y herramientas de vigilancia como la epidemiología basada en aguas residuales permite una caracterización más robusta del resistoma y del perfil de contaminantes en matrices complejas. Asimismo, los POA evaluados en el proyecto se perfilan como estrategias prometedoras para complementar los tratamientos convencionales, especialmente cuando se aplican de forma selectiva en corrientes de alta carga o como etapas terciarias/cuaternarias.

En el ámbito normativo, la reciente Directiva Europea 2024/3019 introduce un marco regulatorio ambicioso que reconoce explícitamente la necesidad de incorporar tecnologías avanzadas y mecanismos de responsabilidad extendida del productor. No obstante, su implementación efectiva dependerá de la viabilidad técnica, económica y operativa de las soluciones adoptadas, así como de la armonización de políticas entre regiones.

El enfoque *One Health* emerge como un marco conceptual imprescindible para abordar la problemática de manera integrada, reconociendo la interdependencia entre salud humana, animal y ambiental. En este sentido, la combinación de innovación tecnológica, fortalecimiento regulatorio y sensibilización social —tal como propone EMERGENTcy— constituye una estrategia coherente para avanzar hacia una gestión más sostenible del ciclo urbano del agua.

Como perspectivas futuras, se identifican tres prioridades: (i) el desarrollo de tecnologías costo-efectivas adaptables a plantas de mediana y pequeña escala, (ii) la consolidación de sistemas de monitoreo continuo apoyados en

automatización y análisis avanzado de datos, y (iii) el fortalecimiento de programas educativos que promuevan el uso racional de antibióticos y reduzcan la presión selectiva ambiental.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflictos de interés de carácter financiero, personal o profesional que pudieran haber influido en los resultados o en la interpretación de los datos presentados en este trabajo.

Financiación

Este trabajo fue financiado por el proyecto POCTEFA EMERGENCY (EFA37/01). El proyecto EMERGENCY ha sido cofinanciado en un 65% por la Unión Europea a través del programa Interreg VI-A España–Francia–Andorra (POCTEFA 2021–2027), cuyo objetivo es fortalecer la integración económica y social en la región fronteriza entre España, Francia y Andorra.

Bibliografía

- Abueg, LAL, Afgan E, Allart O, Awan AH, Bacon WA, Baker D, *et al.* The Galaxy platform for accessible, reproducible, and collaborative data analyses: 2024 update. *Nucl Acids Res.* 2024;52:W83-94. doi: [10.1093/nar/gkac410](https://doi.org/10.1093/nar/gkac410)
- Aga DS, Goldfish R, Kulshrestha P. Application of ELISA in determining the fate of tetracyclines in land-applied livestock wastes. *Analyst.* 2023;128:658-662. doi: [10.1039/b301630g](https://doi.org/10.1039/b301630g)
- Ahmed S, Ning J, Peng D, Chen T, Ahmad I, Ali A, *et al.* Current advances in immunoassays for the detection of antibiotics residues: a review. *Food Agric Immunol.* 2020;31:268-290. doi: [10.1080/09540105.2019.1707171](https://doi.org/10.1080/09540105.2019.1707171)
- Alcock BP, Huynh W, Chalil R, Smith KW, Raphenya AR, Wlodarski MA, *et al.* CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. *Nucl Acids Res.* 2023;51:D690-699. doi: [10.1093/nar/gkac920](https://doi.org/10.1093/nar/gkac920)
- Altmann J, Ruhl AS, Zietzschmann F, Jekel M. Direct comparison of ozonation and adsorption onto powdered activated carbon for micropollutant removal in advanced wastewater treatment. *Water Res.* 2014;55:185-193. doi: [10.1016/j.watres.2014.02.025](https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.02.025)
- The AMR One Health Surveillance Committee. Nippon AMR One Health Report (NAOR) 2023. Ministry of Health, Tokyo, Japón. 2024. <https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/001268945.pdf>
- Andersson DI, Balaban NQ, Baquero F, Courvalin P, Glaser P, Gophna U, *et al.* Antibiotic resistance: Turning evolutionary principles into clinical reality. *FEMS Microbiol Rev.* 2021;44:171-188. doi: [10.1093/FEMSRE/FUAA001](https://doi.org/10.1093/FEMSRE/FUAA001)
- Anis SF, Hashaikeh R, Hilal N. Microfiltration membrane processes: A review of research trends over the past decade. *J Water Process Eng.* 2019;32:100941. doi: [10.1016/j.jwpe.2019.100941](https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2019.100941)
- Apjok G, Számel M, Christodoulou C, Seregi V, Vársárhelyi BM, Stirling T, *et al.* Characterization of antibiotic resistomes by reprogrammed bacteriophage-enabled functional metagenomics in clinical strains. *Nat Microbiol.* 2023;8:410-423. doi: [10.1038/s41564-023-01320-2](https://doi.org/10.1038/s41564-023-01320-2)
- Arango-Argoty G, Garner E, Pruden A, Heath LS, Vikesland P, Zhang L. DeepARG: A deep learning approach for predicting antibiotic resistance genes from metagenomic data. *Microbiome.* 2018;6:23. doi: [10.1186/s40168-018-0401-z](https://doi.org/10.1186/s40168-018-0401-z)
- Australian Water Quality Management Strategy. Australian guidelines for water recycling: Managing health and environmental risks (Phase 2). Augmentation of drinking water supplies. Environment Protection and Heritage Council, the National Health and Medical Research Council and the Natural Resource Management Ministerial Council. Canberra, Australia. 2008. <https://www.waterquality.gov.au/sites/default/files/documents/water-recycling-guidelines-augmentation-drinking-22.pdf>
- Ávila C, Pelissari C, Sezerino PH, Sgroi M, Roccaro P, García J. Enhancement of total nitrogen removal through effluent recirculation and fate of PPCPs in a hybrid constructed wetland system treating urban wastewater. *Sci Total Environ.* 2017;584-585:414-425. doi: [10.1016/j.scitotenv.2017.01.024](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.024)
- Bade R, Huchthausen J, Huber C, Dewapriya P, Tschärke BJ, Verhagen R, *et al.* Improving wastewater-based epidemiology for new psychoactive substance surveillance by combining a high-throughput in vitro metabolism assay and LC-HRMS metabolite identification. *Water Res.* 2024;253:121297. doi: [10.1016/j.watres.2024.121297](https://doi.org/10.1016/j.watres.2024.121297)
- Bartosh AV, Sotnikov DV, Hendrickson OD, Zherdev AV, Dzantiev BB. Design of multiplex lateral flow tests: A case study for simultaneous detection of three antibiotics. *Biosensors.* 2020;10:17. doi: [10.3390/bios10030017](https://doi.org/10.3390/bios10030017)
- Bernharthorton C, Willis J, Raje H, Boopathy R. Effect of a natural wetland on the removal of antibiotics and antibiotic resistant bacteria in a treated sewage treatment effluent. *Bioresour Tech Rep.* 2023;23:101558. doi: [10.1016/j.biteb.2023.101558](https://doi.org/10.1016/j.biteb.2023.101558)
- Bhatt S, Chatterjee S. Fluoroquinolone antibiotics: Occurrence, mode of action, resistance, environmental detection, and remediation - A comprehensive review. *Environ Pollut.* 2022;315:120440. doi: [10.1016/j.envpol.2022.120440](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120440)
- Bolger AM, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics.* 2014;30:2114-2120. doi: [10.1093/bioinformatics/btu170](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170)
- Bombaywala S, Mandpe A, Paliya S, Kumar S. Antibiotic resistance in the environment: a critical insight on its occurrence, fate, and eco-toxicity. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2021;28:24889-24916. doi: [10.1007/s11356-021-13143-x](https://doi.org/10.1007/s11356-021-13143-x)
- Bourgin M, Beck B, Boehler M, Borowska E, Fleiner J, Salhi E, *et al.* Evaluation of a full-scale wastewater treatment plant upgraded with ozonation and biological post-treatments: Abatement of micropollutants, formation of transformation products and oxidation by-products. *Water Res.* 2018;129:486-498. doi: [10.1016/j.watres.2017.10.036](https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.10.036)
- Brillas E. A review on the photoelectro-Fenton process as efficient electrochemical advanced oxidation for wastewater remediation. Treatment with UV light, sunlight, and coupling with conventional and other photo-assisted advanced technologies. *Chemosphere.* 2020;250:126198. doi: [10.1016/j.chemosphere.2020.126198](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126198)
- Buermans HPJ, den Dunnen JT. Next generation sequencing technology: Advances and applications. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1842:1932-1941. doi: [10.1016/j.bbadis.2014.06.015](https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2014.06.015)
- Chang X, Cui J, Wang G, Meng S, Chen L, Zhang M. Emerging technologies for detecting antibiotics in aquaculture wastewater: A critical review. *Environ Sci Ecotechnol.* 2025;25:100572. doi: [10.1016/j.ese.2025.100572](https://doi.org/10.1016/j.ese.2025.100572)
- Chen J, Wei XD, Liu YS, Ying GG, Liu SS, He LY, *et al.* Removal of antibiotics and antibiotic resistance genes from domestic sewage by constructed wetlands: Optimization of wetland substrates and hydraulic loading. *Sci Total Environ.* 2016;565:240-248. doi: [10.1016/j.scitotenv.2016.04.176](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.04.176)
- Chen P, Yu X, Zhang J, Wang Y. New and traditional methods for antibiotic resistance genes removal: Constructed wetland technology and photocatalysis technology. *Front Microbiol.* 2023;13:1110793. doi: [10.3389/fmicb.2022.1110793](https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1110793)
- Chen XF, Hou X, Xiao M, Zhang L, Cheng JW, Zhou ML, *et al.* Matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) analysis for the identification of pathogenic microorganisms: A review. *Microorganisms.* 2021;9:1536. doi: [10.3390/microorganisms9071536](https://doi.org/10.3390/microorganisms9071536)
- Choi PM, Tschärke BJ, Donner E, O'Brien JW, Grant SC, Kaserzon SL, *et al.* Wastewater-based epidemiology biomarkers: Past, present and future. *TrAC Trends Anal Chem.* 2018;105:453-469. doi: [10.1016/j.trac.2018.06.004](https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.06.004)
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI, Wayne, USA. 2020.
- Coccolini F, Improta M, Cicuttin E, Catena F, Sartelli M, Bova R, *et al.* Surgical site infection prevention and management in immunocompromised patients: a systematic review of the literature. *World J Emerg Surg.* 2021;16:33. doi: [10.1186/s13017-021-00375-y](https://doi.org/10.1186/s13017-021-00375-y)
- Davey CJ, Kraak MHS, Praetorius A, ter Laak TL, van Wezel AP. Occurrence, hazard, and risk of psychopharmaceuticals and illicit drugs in European surface waters. *Water Res.* 2022;222:118878. doi: [10.1016/j.watres.2022.118878](https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118878)
- Dewil R, Mantzavinos D, Poullos I, Rodrigo MA. New perspectives for Advanced Oxidation Processes. *J Environ Manage.* 2017;195:93-99. doi: [10.1016/j.jenvman.2017.04.010](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.04.010)
- Di Conza JA. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical microbiology. *Rev Argent Microbiol.* 2022;54:163-165. doi: [10.1016/j.ram.2022.08.001](https://doi.org/10.1016/j.ram.2022.08.001)
- Di Nardo F, Chiarello M, Cavalera S, Baggiani C, Anfossi L. Ten years of lateral flow immunoassay technique applications: Trends, challenges and future perspectives. *Sensors.* 2021;21:5158. doi: [10.3390/s21155185](https://doi.org/10.3390/s21155185)
- de Abreu VAC, Perdigão J, Almeida S. Metagenomic approaches to analyze antimicrobial resistance: an overview. *Front Genet.* 2021;11:575592. doi: [10.3389/fgene.2020.575592](https://doi.org/10.3389/fgene.2020.575592)

- Elbehiry A, Marzouk E, Abalkhail A, Abdelsalam MH, Mostafa MEA, Alasiri M, *et al.* Detection of antimicrobial resistance via state-of-the-art technologies versus conventional methods. *Front Microbiol.* 2025;16:1549044. doi: [10.3389/fmicb.2025.1549044](https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1549044)
- Environmental Protection Agency (EPA). Contaminants of emerging concern including pharmaceuticals and personal care products. 2025. <https://www.epa.gov/wqc/contaminants-emerging-concern-including-pharmaceuticals-and-personal-care-products>. Acceso el 1 de febrero de 2026.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance (v.2). EUCAST, Basilea, Suiza. 2017. <https://www.eucast.org/bacteria/important-additional-information/resistance-detection/>
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Clinical breakpoints - bacteria (v 15.0). 2025. https://www.eucast.org/fileadmin/eucast/pdf/breakpoints/v_15.0_Breakpoint_Tables.pdf. Acceso el 1 de febrero de 2026.
- Fabregat-Safont D, Gracia-Marín E, Ibáñez M, Pitarch E, Hernández, F. Analytical key issues and challenges in the LC-MS/MS determination of antibiotics in wastewater. *Anal Chim Acta.* 2023;1239:340739. doi: [10.1016/j.aca.2022.340739](https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.340739)
- Fang B, Xiong Q, Duan H, Xiong Y, Lai W. Tailored quantum dots for enhancing sensing performance of lateral flow immunoassay. *TrAC Trends Anal Chem.* 2022;157:116754. doi: [10.1016/j.trac.2022.116754](https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116754)
- FAO, UNEP, WHO, WOA. One Health Joint Plan of Action, 2022–2026. Working together for the health of humans, animals, plants and the environment. FAO; UNEP; WHO; World Organisation for Animal Health (WOAH), Roma, Italia. 2022. doi: <https://doi.org/10.4060/cc2289en>
- Fernández-Castro P, Vallejo M, San Román MF, Ortiz I. Insight on the fundamentals of advanced oxidation processes. Role and review of the determination methods of reactive oxygen species. *J Chem Technol Biotechnol.* 2015;90:796-820. doi: [10.1002/jctb.4634](https://doi.org/10.1002/jctb.4634)
- Ferreira VRA, Amorim CL, Cravo SM, Tiritan ME, Castro PML, Afonso CMM. Fluoroquinolones biosorption onto microbial biomass: activated sludge and aerobic granular sludge. *Int Biodeter Biodegr.* 2016;110:53-60. doi: [10.1016/j.ibiod.2016.02.014](https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.02.014)
- Florio W, Baldeschi L, Rizzato C, Tavanti A, Ghelardi E, Lupetti A. Detection of antibiotic-resistance by MALDI-TOF mass spectrometry: An expanding area. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;10:572909. doi: [10.3389/fcimb.2020.572909](https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.572909)
- Freifeld AG, Bow EJ, Sepkowitz KA, Boeckh MJ, Ito JI, Mullen CA, *et al.* Clinical practice guideline for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer: 2010 update by the infectious diseases society of America. *Clin Infect Dis.* 2011;52:e56-93. doi: [10.1093/cid/cir073](https://doi.org/10.1093/cid/cir073)
- Frigoli M, Krupa MP, Hooyberghs G, Lowdon JW, Cleij TJ, Diliñ H, *et al.* Electrochemical sensors for antibiotic detection: A focused review with a brief overview of commercial technologies. *Sensors.* 2024;24:5576. doi: [10.3390/s24175576](https://doi.org/10.3390/s24175576)
- Galhano BSP, Ferrari RG, Panzenhagen P, de Jesus ACS, Conte-Junior CA. Antimicrobial resistance gene detection methods for bacteria in animal-based foods: A brief review of highlights and advantages. *Microorganisms.* 2021;9:923. doi: [10.3390/microorganisms9050923](https://doi.org/10.3390/microorganisms9050923)
- Gao P, Munir M, Xagorarakis I. Correlation of tetracycline and sulfonamide antibiotics with corresponding resistance genes and resistant bacteria in a conventional municipal wastewater treatment plant. *Sci Total Environ.* 2012;421-422:173-183. doi: [10.1016/j.scitotenv.2012.01.061](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.01.061)
- Garrido-Cardenas JA, Esteban-García B, Agüera A, Sánchez-Pérez JA, Manzano-Aguilero F. Wastewater treatment by advanced oxidation process and their worldwide research trends. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17:170. doi: [10.3390/ijerph17010170](https://doi.org/10.3390/ijerph17010170)
- Gomes M, Vieira H, Vale FF. Characterization, validation and application of a DNA microarray for the detection of mandatory and other waterborne pathogens. *J Biochem.* 2015;158:393-401. doi: [10.1093/jb/mvv052](https://doi.org/10.1093/jb/mvv052)
- Gobierno de Japón. National action plan on antimicrobial resistance (AMR) 2023-2027 (version inglesa). Gobierno de Japón, Tokyo, Japón. 2023. www.mhlw.go.jp/content/10900000/001096228.pdf
- Guataquira Rincón JL, Cuéllar Rodríguez RR, Palomino Boshell LD. Water management in Latin America: Challenges, emerging contaminants and the case of Colombia. *Environ Res Ecotox.* 2023;2:57. doi: [10.56294/ere202357](https://doi.org/10.56294/ere202357)
- Guliy Ol, Zaitsev BD, Smirnov AV, Karavaeva OA, Borodina IA. Prospects of acoustic sensor systems for antibiotic detection. *Biosens Bioelectron X.* 2022;12:100274. doi: [10.1016/j.biosx.2022.100274](https://doi.org/10.1016/j.biosx.2022.100274)
- Halling-Sørensen B, Nielsen SN, Lanzky PF, Ingerslev F, Holten Lützhøft HC, Jørgensen SE. Occurrence, fate and effects of pharmaceuticals substance in the environment - A review. *Chemosphere.* 1998;36:357-393. doi: [10.1016/S0045-6535\(97\)00354-8](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(97)00354-8)
- Han Z, Feng H, Wang C, Wang X, Yang M, Zhang Y. Mitigating antibiotic resistance emissions in the pharmaceutical industry: Global governance and available techniques. *China CDC Wkly.* 2023;5:1038-1044. doi: [10.46234/ccdcw2023.195](https://doi.org/10.46234/ccdcw2023.195)
- Hassoun-Kheir N, Stabholz Y, Kreft JU, de la Cruz R, Romalde JL, Nesme J, *et al.* Comparison of antibiotic-resistant bacteria and antibiotic resistance genes abundance in hospital and community wastewater: A systematic review. *Sci Total Environ.* 2020;743:140804. doi: [10.1016/j.scitotenv.2020.140804](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140804)
- He K, Soares AD, Adejumo H, McDiarmid M, Squibb K, Blaney L. Detection of a wide variety of human and veterinary fluoroquinolone antibiotics in municipal wastewater and wastewater-impacted surface water. *J Pharm Biomed Anal.* 2015;106:136-143. doi: [10.1016/j.jpba.2014.11.020](https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.11.020)
- Hiller CX, Schwaller C, Wurzbacher C, Drewes JE. Removal of antibiotic microbial resistance by micro- and ultrafiltration of secondary wastewater effluents at pilot scale. *Sci Total Environ.* 2022;838:156052. doi: [10.1016/j.scitotenv.2022.156052](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156052)
- Hong P-Y, Al-Jassim N, Ansari MI, Mackie RI. Environmental and public health implications of water reuse: Antibiotics, antibiotic resistant bacteria, and antibiotic resistance genes. *Antibiotics.* 2013;2:367-399. doi: [10.3390/antibiotics2030367](https://doi.org/10.3390/antibiotics2030367)
- Hörsing M, Ledin A, Grabic R, Fick J, Tysklind M, Jansen J la C, *et al.* Determination of sorption of seventy-five pharmaceuticals in sewage sludge. *Water Res.* 2011;45:4470-4482. doi: [10.1016/j.watres.2011.05.033](https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.05.033)
- Hrabák J, Chudáckova, E, Walková, R. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry for detection of antibiotic resistance mechanisms: From research to routine diagnosis. *Clin Microbiol Rev.* 2013;26:103-114. doi: [10.1128/CMR.00058-12](https://doi.org/10.1128/CMR.00058-12)
- Huang X, Zheng J, Liu C, Liu L, Liu Y, Fan H. Removal of antibiotics and resistance genes from swine wastewater using vertical flow constructed wetlands: Effect of hydraulic flow direction and substrate type. *Chem Eng J.* 2017;308692-699. doi: [10.1016/j.cej.2016.09.110](https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.09.110)
- Iakovides IC, Michael-Kordatou I, Moreira NFF, Ribeiro AR, Fernandes T, Pereira MFR, *et al.* Continuous ozonation of urban wastewater: Removal of antibiotics, antibiotic-resistant *Escherichia coli* and antibiotic resistance genes and phytotoxicity. *Water Res.* 2019;159:333-347. doi: [10.1016/j.watres.2019.05.025](https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.05.025)
- Issaka E, AMU-Darko JN-O, Yakubu S, Fapohunda FO, Ali N, Bilal M. Advanced catalytic ozonation for degradation of pharmaceutical pollutants-A review. *Chemosphere.* 2022;289:133208. doi: [10.1016/j.chemosphere.2021.133208](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.133208)
- Jaría G, Calisto V, Otero M, Esteves VI. Monitoring pharmaceuticals in the aquatic environment using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)-a practical overview. *Anal Bioanal Chem.* 2020;412:3983-4008. doi: [10.1007/s00216-020-02509-8](https://doi.org/10.1007/s00216-020-02509-8)
- Jelic A, Gros M, Ginebreda A, Cespedes-Sánchez R, Ventura F, Petrovic M, *et al.* Occurrence, partition and removal of pharmaceuticals in sewage water and sludge during wastewater treatment. *Water Res.* 2011;45:1165-1176. doi: [10.1016/j.watres.2010.11.010](https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.11.010)

- Jocobo-Marín D, Santacruz de León G. Contaminantes emergentes en el agua: Regulación en México, principio precautorio y perspectiva comparada. *Rev Derecho Ambient.* 2021;1:51-75. doi: [10.5354/0719-4633.2021.57414](https://doi.org/10.5354/0719-4633.2021.57414)
- Jojoa-Sierra SD, Serna-Galvis EA, García-Rubio I, Ormad MP, Torres-Palma RA, Mosteo R. The photocatalytic degradation of enrofloxacin using an ecofriendly natural iron mineral: the relationship between the degradation routes, generated byproducts, and antimicrobial activity of treated solutions. *Molecules.* 2024;29:5982. doi: [10.3390/molecules29245982](https://doi.org/10.3390/molecules29245982)
- Joseph TA, Pe'er I. An introduction to whole-metagenome shotgun sequencing studies. *Methods Mol Biol.* 2021;2243:107-122. doi: [10.1007/978-1-0716-1103-6_6](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1103-6_6)
- Kang DD, Li F, Kirton E, Thomas A, Egan R, An H, Wang Z. MetaBAT 2: An adaptive binning algorithm for robust and efficient genome reconstruction from metagenome assemblies. *PeerJ.* 2019;7:e735. doi: [10.7717/peerj.7359](https://doi.org/10.7717/peerj.7359)
- Knopp G, Prasse C, Ternes TA, Cornel P. Elimination of micropollutants and transformation products from a wastewater treatment plant effluent through pilot scale ozonation followed by various activated carbon and biological filters. *Water Res.* 2016;100:580-592. doi: [10.1016/j.watres.2016.04.069](https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.04.069)
- Kumar K, Thompson A, Singh AK, Chander Y, Gupta SC. Enzyme-linked immunosorbent assay for ultratrace determination of antibiotics in aqueous samples. *J Environ Qual.* 2004;33:250-256. doi: [10.2134/jeq2004.2500](https://doi.org/10.2134/jeq2004.2500)
- Langmead B, Trapnell C, Pop M, Salzberg SL. Ultrafast and memory-efficient alignment of short DNA sequences to the human genome. *Genome Biol.* 2009;10:R25. doi: [10.1186/gb-2009-10-3-r25](https://doi.org/10.1186/gb-2009-10-3-r25)
- Lan L, Yao Y, Ping J, Ying Y. Recent advances in nanomaterial-based biosensors for antibiotics detection. *Biosens Bioelectron.* 2017;91:504-514. doi: [10.1016/j.bios.2017.01.007](https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.01.007)
- Leal Ascencio MT. *Tecnologías convencionales de tratamiento de agua y sus limitaciones.* En: Blesa MA y Blanco Gálvez J (eds). *Tecnologías solares para la desinfección y descontaminación del agua.* Universidad Nacional de San Martín, Buenos Aires, Argentina. 2005. pp: 63–72. https://www.psa.es/es/unidades/tsa/projects/solarsafewater/documents/libro/04_Capitulo_04.pdf
- Lemarchand K, Masson L, Brousseau R. Molecular biology and DNA microarray technology for microbial quality monitoring of water. *Crit Rev Microbiol.* 2004;30:145-172. doi: [10.1080/10408410490435142](https://doi.org/10.1080/10408410490435142)
- Liguori K, Keenum I, Davis BC, Calarco J, Milligan E, Harwood VJ, Pruden A. Antimicrobial resistance monitoring of water environments: a framework for standardized methods and quality control. *Environ Sci Technol.* 2022;56:9149-9160. doi: [10.1021/acs.est.1c08918](https://doi.org/10.1021/acs.est.1c08918)
- Li M, Lu B, Ke Q-F, Guo Y-J, Guo Y-P. Synergetic effect between adsorption and photodegradation on nanostructured TiO₂/activated carbon fiber felt porous composites for toluene removal. *J Hazard Mater.* 2017;333:88-98. doi: [10.1016/j.jhazmat.2017.03.019](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.03.019)
- Li S, Zhang R, Hu J, Shi W, Kuang Y, Guo X, Sun W. Occurrence and removal of antibiotics and antibiotic resistance genes in natural and constructed riverine wetlands in Beijing, China. *Sci Total Environ.* 2019;664:546-553. doi: [10.1016/j.scitotenv.2019.02.043](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.043)
- Liu C, Li B, Liu M, Mao S. Demand, status, and prospect of antibiotics detection in the environment. *Sens Actuator B Chem.* 2022;369:132383. doi: [10.1016/j.snb.2022.132383](https://doi.org/10.1016/j.snb.2022.132383)
- Liu H, Li Z, Qiang Z, Karanfil T, Yang M, Liu C. The elimination of cell-associated and non-cell-associated antibiotic resistance genes during membrane filtration processes: A review. *Sci Total Environ.* 2022;833:155250. doi: [10.1016/j.scitotenv.2022.155250](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155250)
- Liu H, Zhang Z, Li X, Zhou T, Wang Z, Li J, Li Y, Wang Q. Temperature-phased anaerobic sludge digestion effectively removes antibiotic resistance genes in a full-scale wastewater treatment plant. *Sci Total Environ.* 2024;924:171555. doi: [10.1016/j.scitotenv.2024.171555](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.171555)
- Liu Q, Zhang H, Jiang H, Yang P, Luo L, Niu Q, *et al.* Photoactivities regulating of inorganic semiconductors and their applications in photoelectrochemical sensors for antibiotics analysis: A systematic review. *Biosens Bioelectron.* 2022;216:114634. doi: [10.1016/j.bios.2022.114634](https://doi.org/10.1016/j.bios.2022.114634)
- Li Z, Zhu M. Detection of pollutants in water bodies: electrochemical detection or photo-electrochemical detection? *Chem Commun.* 2020;56:14541-14552. doi: [10.1039/d0cc05709f](https://doi.org/10.1039/d0cc05709f)
- Lu J, Breitwieser FP, Thielen P, Salzberg SL. Bracken: Estimating species abundance in metagenomics data. *PeerJ Comput Sci.* 2017;3:e104. doi: [10.7717/peerj-cs.104](https://doi.org/10.7717/peerj-cs.104)
- Luo Y, Sun Y, Wei X, He Y, Wang H, Cui Z, *et al.* Detection methods for antibiotics in wastewater: a review. *Bioprocess Biosyst Eng.* 2024;47:1433-1451. doi: [10.1007/s00449-024-03033-0](https://doi.org/10.1007/s00449-024-03033-0)
- Madhu S, Ramasamy S, Choi J. Recent developments in electrochemical sensors for the detection of antibiotic-resistant bacteria. *Pharmaceuticals.* 2022;15:1488. doi: [10.3390/ph15121488](https://doi.org/10.3390/ph15121488)
- Madikizela LM, Ncube S, Tutu H, Richards H, Newman B, Ndungu K, *et al.* Pharmaceuticals and their metabolites in the marine environment: Sources, analytical methods and occurrence. *Trends Environ Anal Chem.* 2020;28:e00104. doi: [10.1016/j.teac.2020.e00104](https://doi.org/10.1016/j.teac.2020.e00104)
- Magnano San Lio R, Barchitta M, Maugeri A, La Rosa MC, Favara G, Agodi A. Updates on developing and applying biosensors for the detection of microorganisms, antimicrobial resistance genes and antibiotics: a scoping review. *Front Public Health.* 2023;11:1240584. doi: [10.3389/fpubh.2023.1240584](https://doi.org/10.3389/fpubh.2023.1240584)
- Majdinasab M, Mishra RK, Tang X, Marty JL. Detection of antibiotics in food: New achievements in the development of biosensors. *Trends Anal Chem.* 2020;127:115883. doi: [10.1016/j.trac.2020.115883](https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115883)
- Maldonado N, Robledo C, Robledo J. La espectrometría de masas MALDI-TOF en el laboratorio de microbiología clínica. *Infectio.* 2018;22:35-45. doi: [10.22354/in.v0i0.703](https://doi.org/10.22354/in.v0i0.703)
- McConnell MM, Hansen LT, Jamieson RC, Neudorf KD, Yost CK, Tong A. Removal of antibiotic resistance genes in two tertiary level municipal wastewater treatment plants. *Sci Total Environ.* 2018;643:292-300. doi: [10.1016/j.scitotenv.2018.06.212](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.212)
- Michael I, Rizzo L, McArdell CS, Manaia CM, Merlin C, Schwartz T, *et al.* Urban wastewater treatment plants as hotspots for the release of antibiotics in the environment: A review. *Water Res.* 2013;47:957-995. doi: [10.1016/j.watres.2012.11.027](https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.11.027)
- Miklos DB, Remy C, Jekel M, Linden KG, Drewes JE, Hübner U. Evaluation of advanced oxidation processes for water and wastewater treatment – A critical review. *Water Res.* 2018;139:118-131. doi: [10.1016/j.watres.2018.03.042](https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.03.042)
- Miller PL, Chin Y-P. Indirect photolysis promoted by natural and engineered wetland water constituents: processes leading to alachlor degradation. *Environ Sci Tech.* 2005;39:4454-4462. doi: [10.1021/es049111e](https://doi.org/10.1021/es049111e)
- Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico (MITECO) de España. Lista de observación. <https://www.Miteco.Gob.Es/Es/Agua/Temas/Estado-y-Calidad-de-Las-Aguas/Contaminantes-Emergentes/Lista-Observacion.Html>. Acceso el 1 de febrero de 2026.
- Ministry of Ecology and Environment P.R.China. Water pollution prevention and control law of the People's Republic of China 2017. https://english.mee.gov.cn/Resources/laws/environmental_laws/202012/t20201211_812662.shtml?utm_source=chatgpt.com. Acceso el 1 de febrero de 2026.
- Mohapatra S, Huang C-H, Mukherji S, Padhye LP. Occurrence and fate of pharmaceuticals in WWTPs in India and comparison with a similar study in the United States. *Chemosphere.* 2016;159:526-535. doi: [10.1016/j.chemosphere.2016.06.047](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.06.047)
- Moles S, Mosteo R, Gómez J, Szpunar J, Gozzo S, Castillo JR, *et al.* Towards the removal of antibiotics detected in wastewaters in the POCTEFA territory: Occurrence and TiO₂ photocatalytic pilot-scale plant performance. *Water.* 2020;12:1453. doi: [10.3390/w12051453](https://doi.org/10.3390/w12051453)

- Molleda P, Blanco I, Ansola G, de Luis E. Removal of wastewater pathogen indicators in a constructed wetland in Leon, Spain. *Ecol Eng*. 2008;33:252-257. doi: [10.1016/j.ecoleng.2008.05.001](https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2008.05.001)
- Munir M, Wong K, Xagorarakis I. Release of antibiotic resistant bacteria and genes in the effluent and biosolids of five wastewater utilities in Michigan. *Water Res*. 2011;45:681-93. doi: [10.1016/j.watres.2010.08.033](https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.08.033).
- Muoghalu C, Kaboggoza HC, Semiyaga S, Lebu S, Liu C, Niwagaba C, et al. Antibiotic resistant bacteria (ARB) and genes (ARGs) in urban wastewater treatment plants: influencing factors, mechanisms, and removal efficiency. *Environ Pollut*. 2025;383:126851. doi: [10.1016/j.envpol.2025.126851](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2025.126851)
- Naznine F, Shañ Z, Aafreen U, Shahid M, Parveen S, Ansari MI. Tracking antimicrobial resistance in river waters: Sources, key microbes, and detection techniques. *Microbe*. 2025;7:100386. doi: [10.1016/j.microb.2025.100386](https://doi.org/10.1016/j.microb.2025.100386)
- Nunes MJ, Paz V, Cordas CM, Noronha JP, Branco LC. LC-MS/MS methodology development and validation for the screening and quantification of five antibiotics in water. *Anal Methods*. 2022;14:935-948. doi: [10.1039/d1ay01754c](https://doi.org/10.1039/d1ay01754c)
- Nurk S, Meleshko D, Korobeynikov A, Pevzner PA. MetaSPAdes: A new versatile metagenomic assembler. *Genome Res*. 2017;27:824-834. doi: [10.1101/gr.213959.116](https://doi.org/10.1101/gr.213959.116)
- Oberoi AS, Jia Y, Zhang H, Khanal SK, Lu H. Insights into the fate and removal of antibiotics in engineered biological treatment systems: A critical review. *Environ Sci Technol*. 2019;53:7234-7264. doi: [10.1021/acs.est.9b01131](https://doi.org/10.1021/acs.est.9b01131)
- Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). Embracing a one health framework to fight antimicrobial resistance. OECD Publishing, Paris, Francia. 2023. <https://doi.org/10.1787/ce44c755-en>
- Oviaño M, Bou G. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for the rapid detection of antimicrobial resistance mechanisms and beyond. *Clin Microbiol Rev*. 2018;32:e00037-18. doi: [10.1128/cmr.00037-18](https://doi.org/10.1128/cmr.00037-18)
- Oviaño M, Rojo MD, Navarro Marí JM, Bou G. Detección rápida de resistencias antimicrobianas mediante espectrometría de masas MALDI-TOF. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2016;34:36-41. doi: [10.1016/S0213-005X\(16\)30189-6](https://doi.org/10.1016/S0213-005X(16)30189-6)
- Parlamento Europeo y del Consejo de la Unión Europea. Directiva (UE) 2024/3019, sobre el tratamiento de las aguas residuales urbanas. 2024. <https://www.boe.es/doue/2024/3019/L00001-00059.pdf>.
- Petrović M, Hernando MD, Díaz-Cruz MS, Barceló D. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: A review. *J Chromatogr A*. 2005;1067:1-14. doi: [10.1016/j.chroma.2004.10.110](https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.10.110)
- Pohanka M. Piezoelectric chemosensors and biosensors in medical diagnostics. *Biosensors*. 2025;15:197. doi: [10.3390/bios15030197](https://doi.org/10.3390/bios15030197)
- Polesel F, Andersen HR, Trapp S, Plósz BG. Removal of antibiotics in biological wastewater treatment systems - a critical assessment using the activated sludge modeling framework for xenobiotics (ASM-X). *Environ Sci Technol*. 2016;50:10316-10334. doi: [10.1021/acs.est.6b01899](https://doi.org/10.1021/acs.est.6b01899)
- Polianciuc SI, Gurzău AE, Kiss B, Ștefan MG, Loghin F. Antibiotics in the environment: causes and consequences. *Med Pharm Rep*. 2020;93:231-240. doi: [10.15386/mpr-1742](https://doi.org/10.15386/mpr-1742)
- Pollap A, Kochana J. Electrochemical immunosensors for antibiotic detection. *Biosensors* 2019;9:61. doi: [10.3390/bios9020061](https://doi.org/10.3390/bios9020061)
- Poorasgari E. Effects of anaerobic and aerobic digestion at mesophilic and thermophilic temperatures on the quantity of carbapenem resistance genes in wastewater sludge. [PhD Thesis]. Carleton University, Ottawa, Canada. 2022. <https://scispace.com/pdf/effects-of-anaerobic-and-aerobic-digestion-at-mesophilic-and-2jkeylcs.pdf>. Acceso el 1 de febrero de 2026.
- Price R. O'Neill report on antimicrobial resistance: funding for antimicrobial specialists should be improved. *Eur J Hosp Pharm*. 2016;23:245-247. doi: [10.1136/ejhpharm-2016-001013](https://doi.org/10.1136/ejhpharm-2016-001013)
- Quesada Peñate I. Métodos no convencionales para el tratamiento de aguas contaminadas con productos farmacéuticos. [PhD Tesis]. Instituto Nacional Politécnico de Toulouse - Escuela Nacional Superior de Ingenieros en Artes Químicas y Tecnológicas. La Habana, Cuba y Toulouse, Francia. 2009. <https://theses.hal.science/tel-04391385v1/file/quesada.pdf>
- Real C, Calderón C, Mantilla G. Análisis regional de los instrumentos normativos sobre vertidos, cuerpos receptores y economía circular. Banco de Desarrollo de América Latina y el Caribe, Caracas, Venezuela. 2021. <https://scioteca.caf.com/handle/123456789/1984>
- Rehman K, Jabeen K, Chohan TA, Akash MSH. *Databases, multiplexed PCR, and next-generation sequencing technologies for tracking AMR genes in the environment*. En: Hahsmi MZ (ed). *Antibiotics and Antimicrobial Resistance Genes in the Environment*, Vol. 1. Elsevier, Amsterdam, Países Bajos. 2020. pp: 223-233. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818882-8.00015-2>
- Reichert G, Hilgert S, Fuchs S, Rodrigues Azevedo JC. Emerging contaminants and antibiotic resistance in the different environmental matrices of Latin America. *Environ Pollut*. 2019;255:113140. doi: [10.1016/j.envpol.2019.113140](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113140)
- Reig-Viader R, Giménez E. MALDI-TOF en el diagnóstico de las resistencias a antibióticos. Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya, Barcelona, España. 2019. https://aquas.gencat.cat/web/.content/minisite/aquas/publicacions/2019/malдитof_resistencia_antibioticos_redets_aquas2019.pdf
- Reynoso EC, Laschi S, Palchetti I, Torres E. Advances in antimicrobial resistance monitoring using sensors and biosensors: A review. *Chemosensors*. 2021;9:232. doi: [10.3390/chemosensors9080232](https://doi.org/10.3390/chemosensors9080232)
- Rizzo L, Manaia C, Merlin C, Schwartz T, Dagot C, Ploy MC, et al. Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: A review. *Sci Total Environ*. 2013;447:345-360. doi: [10.1016/j.scitotenv.2013.01.032](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.01.032)
- Saaristo M, Sharp S, Zhang S, Taylor MP. Emerging contaminants in recycled water. Environment Protection Authority Victoria, Melbourne, Australia. 2023. https://www.epa.vic.gov.au/sites/default/files/epa/publications/2054-recycled-water-emerging-contaminants_report_may2023.pdf
- Samaras VG, Stasinakis AS, Mamais D, Thomaidis NS, Lekkas TD. Fate of selected pharmaceuticals and synthetic endocrine disrupting compounds during wastewater treatment and sludge anaerobic digestion. *J Hazard Mater*. 2013;244-245:259-267. doi: [10.1016/j.jhazmat.2012.11.039](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.11.039)
- Sapingi MSM, Khasawneh OFS, Palaniandy P, Aziz HA. *Analytical techniques for the detection of pharmaceuticals in the environment*. In: Khan AH, Khan NA, Naushad M, Aziz HA (Eds). *The Treatment of Pharmaceutical Wastewater: Innovative Technologies and the Adaptation of Treatment Systems*. Elsevier, Amsterdam, Países Bajos. 2023. pp: 149-77. doi: [10.1016/B978-0-323-99160-5.00003-5](https://doi.org/10.1016/B978-0-323-99160-5.00003-5)
- Seemann T. ABRicate: Mass screening of contigs for antibiotic resistance genes. 2016 <https://github.com/tseemann/abricate>.
- Siedlecka A, Piekarska K. The evaluation of the classical Kirby-Bauer antibiogram method for the determination of antibiotic resistant microorganisms in tap water. 9th Conference on Interdisciplinary Problems in Environmental Protection and Engineering EKO-DOK. Virtual. 2017. doi: [10.1051/e3sconf/20171700081](https://doi.org/10.1051/e3sconf/20171700081)
- Siller-Ruiz M, Hernández-Egido S, Sánchez-Juanes F, González-Buitrago JM, Muñoz-Bellido JL. Métodos rápidos de identificación de bacterias y hongos. Espectrometría de masas MALDI-TOF, medios cromogénicos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2017;35:303-13. doi: [10.1016/j.eimc.2016.12.010](https://doi.org/10.1016/j.eimc.2016.12.010)
- Simonetti EAN, de Simone Cividanes L, Campos TMB, Canuto de Menezes BR, Brito FS, Thim GP. Carbon and TiO₂ synergistic effect on methylene blue adsorption. *Mater Chem Phys*. 2016;177:330-338. doi: [10.1016/j.matchemphys.2016.04.035](https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2016.04.035)

- Sims N, Kasprzyk-Hordern B.** Future perspectives of wastewater-based epidemiology: Monitoring infectious disease spread and resistance to the community level. *Environ Int.* 2020;139:105689. doi: [10.1016/j.envint.2020.105689](https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105689)
- Sirés I, Brillas E, Oturan MA, Rodrigo MA, Panizza M.** Electrochemical advanced oxidation processes: Today and tomorrow. A review. *Environ Sci Pollut Res.* 2014;21:8336-8367. doi: [10.1007/s11356-014-2783-1](https://doi.org/10.1007/s11356-014-2783-1)
- Sundsford A, Simonsen GS, Haldorsen BC, Haaheim H, Hjelmevoll SO, Littauer P, *et al.*** Genetic methods for detection of antimicrobial resistance. *APMIS.* 2004;112:815-837. doi: [10.1111/j.1600-0463.2004.apm11211-1208.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2004.apm11211-1208.x)
- Sun Y, Zhao J, Liang L.** Recent development of antibiotic detection in food and environment: the combination of sensors and nanomaterials. *Microchim Acta.* 2021;188:21. doi: [10.1007/s00604-020-04671-3](https://doi.org/10.1007/s00604-020-04671-3)
- Suo Z, Yu T, Xu Y, Ren W, Liu Y, Wei M, *et al.*** Research progress of photoelectrochemical sensors in food detection. *Food Res Int.* 2025;206:116071. doi: [10.1016/j.foodres.2025.116071](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2025.116071)
- Suzuki T, Kosugi Y, Watanabe K, Iida H, Nishimura T.** Environmental risk assessment of active human pharmaceutical ingredients in urban rivers in Japan. *Chem Pharm Bull.* 2021;69:840-853. doi: [10.1248/cpb.c21-00250](https://doi.org/10.1248/cpb.c21-00250)
- Taylor W, Bohm K, Dyet K, Weaver L, Pattis I.** Comparative analysis of qPCR and metagenomics for detecting antimicrobial resistance in wastewater: a case study. *BMC Res Notes.* 2025;18:5. doi: [10.1186/s13104-024-07027-9](https://doi.org/10.1186/s13104-024-07027-9)
- Tiseo K, Huber L, Gilbert M, Robinson TP, Boeckel TPV.** Global trends in antimicrobial use in food animals from 2017 to 2030. *Antibiotics.* 2020;9:918. doi: [10.3390/antibiotics9120918](https://doi.org/10.3390/antibiotics9120918)
- Tiwari B, Sellamuthu B, Ouarda Y, Drogui P, Tyagi RD, Buelna G.** Review on fate and mechanism of removal of pharmaceutical pollutants from wastewater using biological approach. *Bioresour Technol.* 2017;224:1-12. doi: [10.1016/j.biortech.2016.11.042](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.11.042)
- Tran NH, Reinhard M, Gin KY-H.** Occurrence and fate of emerging contaminants in municipal wastewater treatment plants from different geographical regions-a review. *Water Res.* 2018;133:182-207. doi: [10.1016/j.watres.2017.12.029](https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.12.029)
- Van Doorslaer X, Dewulf J, Van Langenhove H, Demeestere K.** Fluoroquinolone antibiotics: An emerging class of environmental micropollutants. *Sci Total Environ.* 2014;500-501:250-269. doi: [10.1016/j.scitotenv.2014.08.075](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.08.075)
- Walsh TR, Gales AC, Laxminarayan R, Dodd PC.** Antimicrobial resistance: addressing a global threat to humanity. *PLoS Med.* 2023;20:e1004264. doi: [10.1371/journal.pmed.1004264](https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1004264)
- Wang F, Xiang L, Sze-Yin Leung K, Elsner M, Zhang Y, Guo Y, *et al.*** Emerging contaminants: A One Health perspective. *Innovation.* 2024;5:100612. doi: [10.1016/j.xinn.2024.100612](https://doi.org/10.1016/j.xinn.2024.100612)
- Wang J, Chu L, Wojnárovits L, Takács E.** Occurrence and fate of antibiotics, antibiotic resistant genes (ARGs) and antibiotic resistant bacteria (ARB) in municipal wastewater treatment plant: An overview. *Sci Total Environ.* 2020;744:140997. doi: [10.1016/j.scitotenv.2020.140997](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140997)
- Wang Y, Cheng B, Jia Y, Qi Y, Li H, Zhang Q, *et al.*** Fate of antibiotic resistance genes during sludge anaerobic fermentation: Roles of different sludge pretreatment. *Environ Res.* 2024;263:120139. doi: [10.1016/j.envres.2024.120139](https://doi.org/10.1016/j.envres.2024.120139)
- Wang Z, Zheng Q, Gao J, Ren J, Ahmed F, Chen Y, *et al.*** Using wastewater analysis to assess the health status of two distinct populations in China. *Water Res X.* 2025;29:100335. doi: [10.1016/j.wroa.2025.100335](https://doi.org/10.1016/j.wroa.2025.100335)
- World Health Organization (WHO).** Antimicrobial resistance: an emerging water, sanitation and hygiene issue. WHO Document Production Services, Ginebra, Suiza. 2014. <https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/4615b96a-f06b-4036-8e66-92417fd0c523/content>
- World Health Organization (WHO).** Global Action Plan on Antimicrobial Resistance. WHO Document Production Services, Ginebra, Suiza. 2015. <https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/1a487887-e162-46a0-8aef-802907c66070/content>
- World Health Organization (WHO).** Physical Activity. 2024a. <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/physical-activity>.
- World Health Organization (WHO).** WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024 Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. WHO Document Production Services, Ginebra, Suiza. 2024b. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240093461>
- World Organization for Animal Health (WOAH) Métodos de laboratorio para las pruebas de sensibilidad de las bacterias frente a los antimicrobianos (2019).** En: Manual de Pruebas de Diagnóstico y Vacunas para los Animales Terrestres 13ª edición. WOAH, Paris, Francia. 2024. https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/E_summry.htm
- Wolff N, Hendling M, Schönthaler S, Geiss AF, Barišić I.** Low-cost microarray platform to detect antibiotic resistance genes. *Sens Bio-Sens Res.* 2019;23:100266. doi: [10.1016/j.sbsr.2019.100266](https://doi.org/10.1016/j.sbsr.2019.100266)
- Wood, DE, Salzberg, SL.** Kraken: ultrafast metagenomic sequence classification using exact alignments. *Genome Biol* 2014;15:R46. <http://ccb.jhu.edu/software/kraken/>
- Yadav S, Kapley A.** Antibiotic resistance: Global health crisis and metagenomics. *Biotechnol Rep.* 2021;29:e00604. doi: [10.1016/j.btre.2021.e00604](https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00604)
- Yoon E-J, Jeong SH.** MALDI-TOF mass spectrometry technology as a tool for the rapid diagnosis of antimicrobial resistance in bacteria. *Antibiotics.* 2021;10:982. doi: [10.3390/antibiotics10080982](https://doi.org/10.3390/antibiotics10080982)
- Yue Y, Yue X, Tang X, Han L, Wang J, Wang S, *et al.*** Synergistic adsorption and photocatalysis study of TiO₂ and activated carbon composite. *Heliyon.* 2024;10:e30817. doi: [10.1016/j.heliyon.2024.e30817](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e30817)
- Zhang Y, Duan L, Wang B, Du Y, Cagnetta G, Huang J, *et al.*** Wastewater-based epidemiology in Beijing, China: Prevalence of antibiotic use in flu season and association of pharmaceuticals and personal care products with socioeconomic characteristics. *Environ Int.* 2019;125:152-160. doi: [10.1016/j.envint.2019.01.061](https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.01.061)