

**UCR**



# **Dos experiencias en microbiología ambiental: microplásticos y resistencia antimicrobiana**

Keilor Rojas Jiménez  
Escuela de Biología, UCR  
[keilor.rojas@ucr.ac.cr](mailto:keilor.rojas@ucr.ac.cr)



# Microplásticos

**CONTAMINACIÓN POR  
MICROPLÁSTICOS EN LOS  
ECOSISTEMAS ACUÁTICOS**



**UCR**

Escuela de  
Biología



# Introducción

## El plástico es un material genial, pero...



- Abundante
- Ubicuo
- Persistente

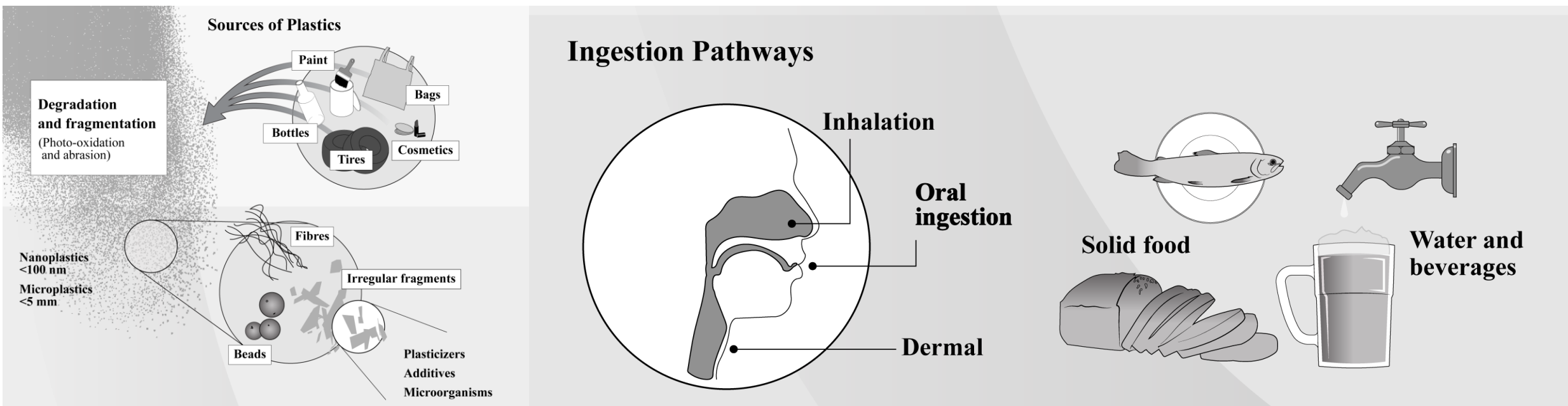


- Muchos tipos
- Diferentes tamaños
- Miles aditivos químicos



- Contamina ambiente
- Riego a la salud de las personas

# Riesgo a la salud



## Efectos en la salud



~ 5 g por semana

- Daño celular
- Estrés oxidativo
- Respuesta inmunológica
- Expresión de genes
- Alteraciones hormonales
- Neurotoxicidad

- Se acumula en estómago, pulmones y en la sangre
- Daño mecánico, químico, alteración microbiota



# 1. Transferencia genes

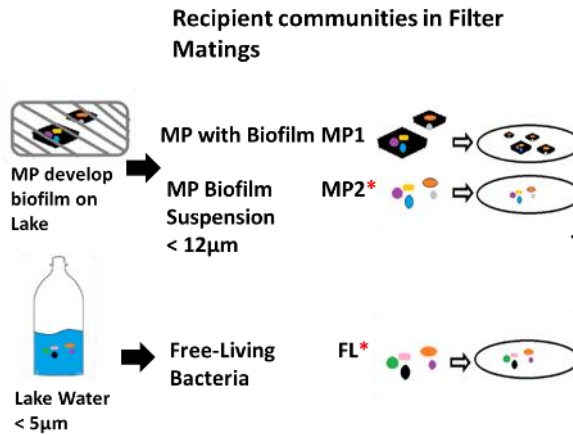
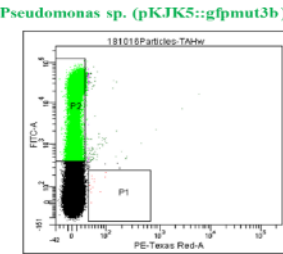
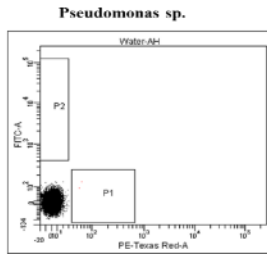
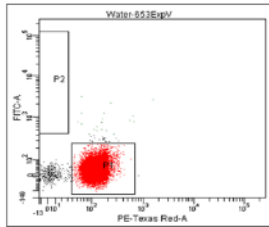
# Los microplásticos aumentan la transferencia horizontal de genes de resistencia a antibióticos en ecosistemas acuáticos

↑ Los microplásticos propician mayor formación de biofilms

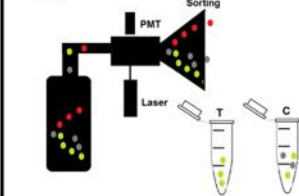


Nuevo nicho para la tranferencia horizontal de genes ↑

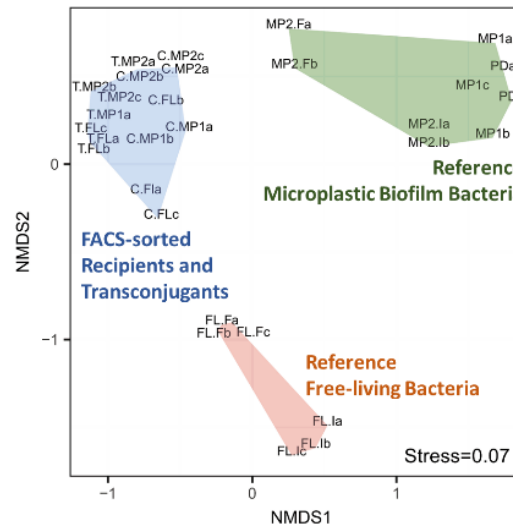
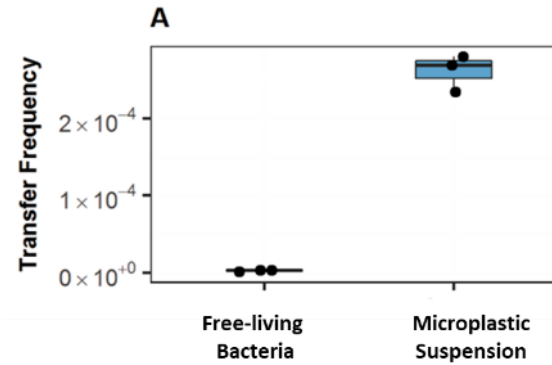
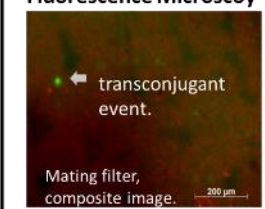
*E. coli* MG1655::lacIq-pLpp-mCherry-KmR (pKJK5::gfpmut3b)



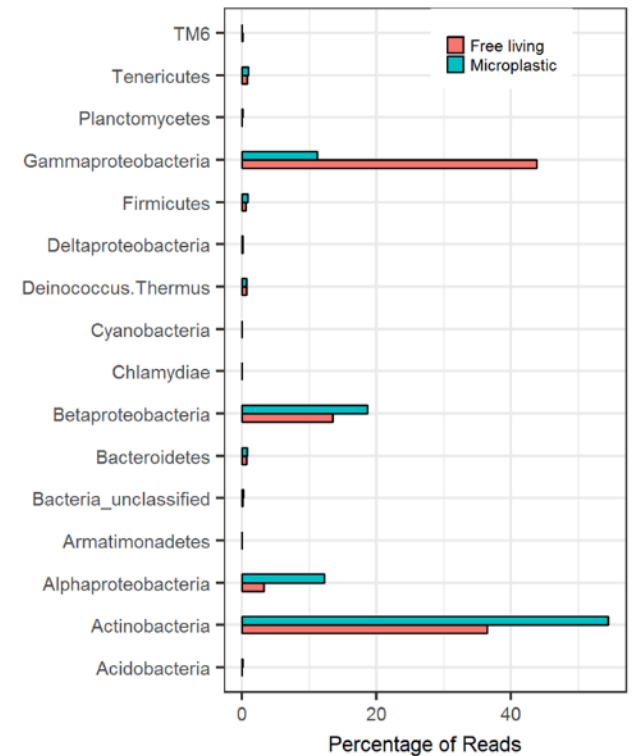
Tranconjugant and Community cells isolation by FACS



Transfer Frequency by Fluorescence Microscopy\*



A. Transconjugant population



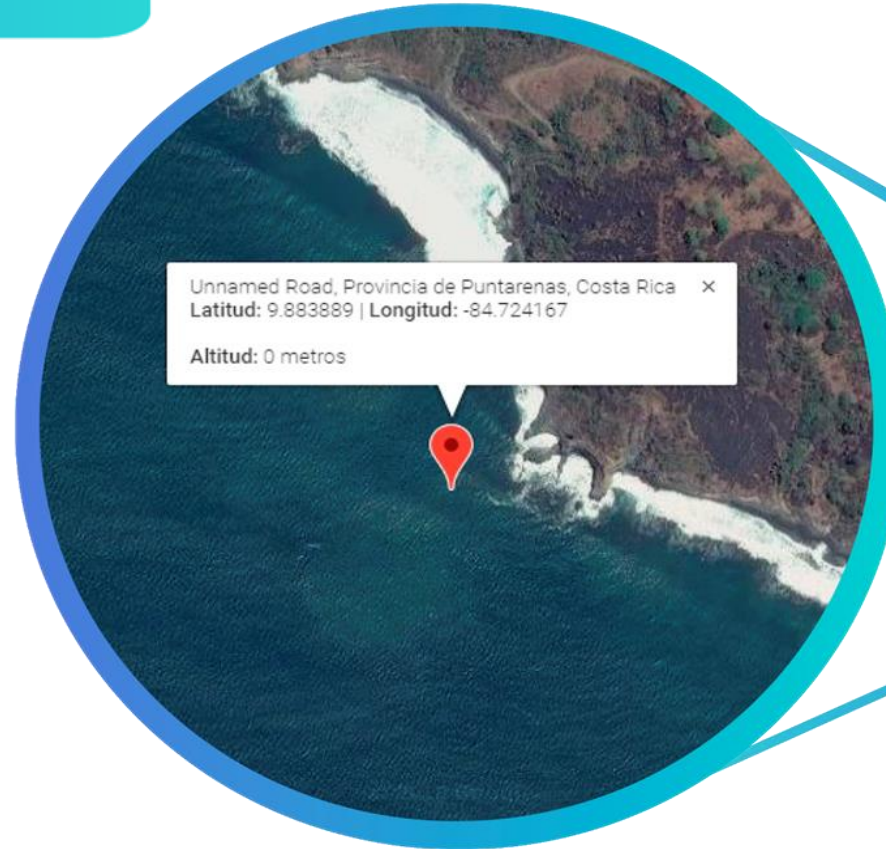


## 2. Sardinas en Pacífico Central



### *Opisthonema* sp.

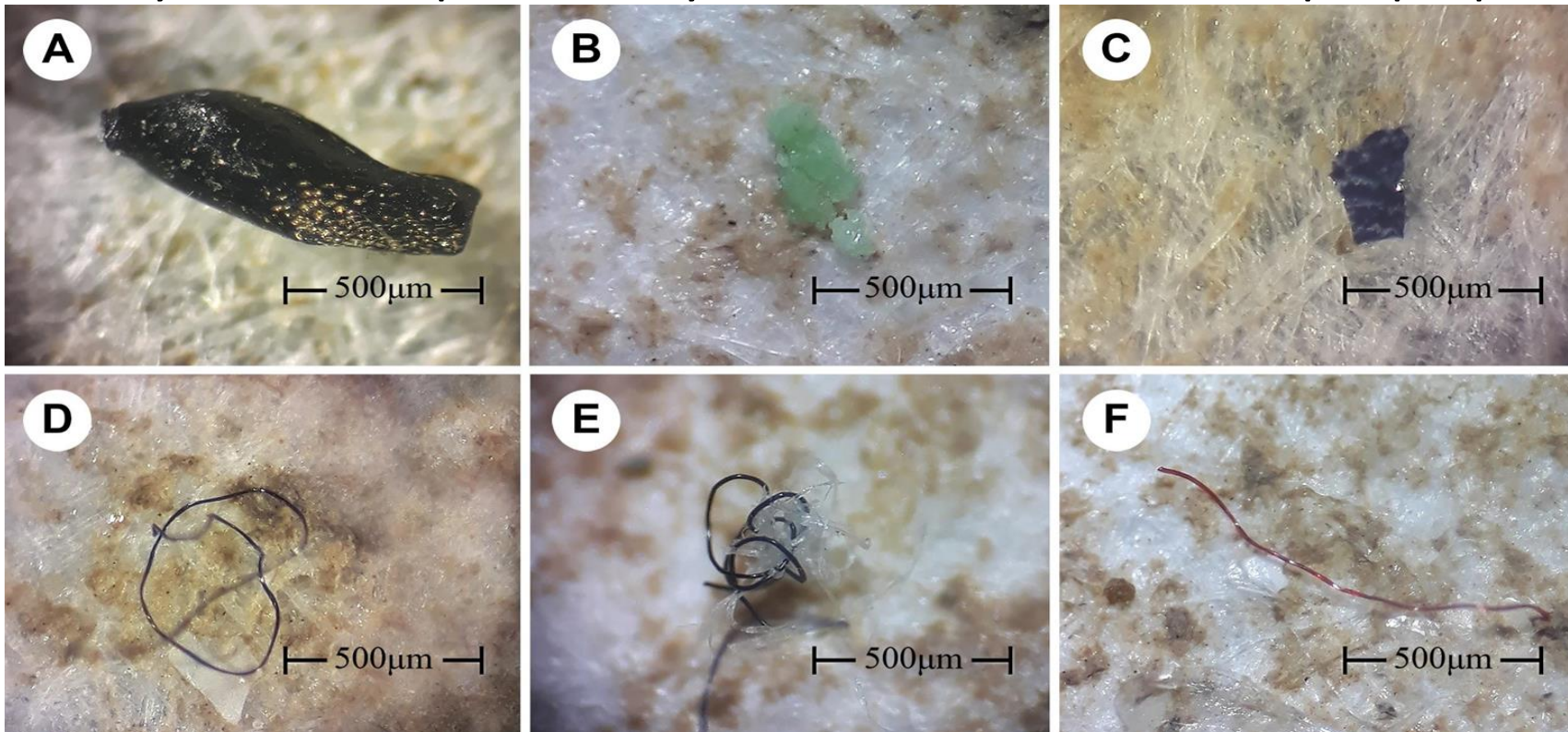
- Podrían ingerir microplásticos:
- Involuntaria (a través de las branquiespinas por movimientos respiratorios o ventilatorios)
- Voluntaria (persecución y captura de organismos planctónicos).





## 2. Sardinas en Pacífico Central

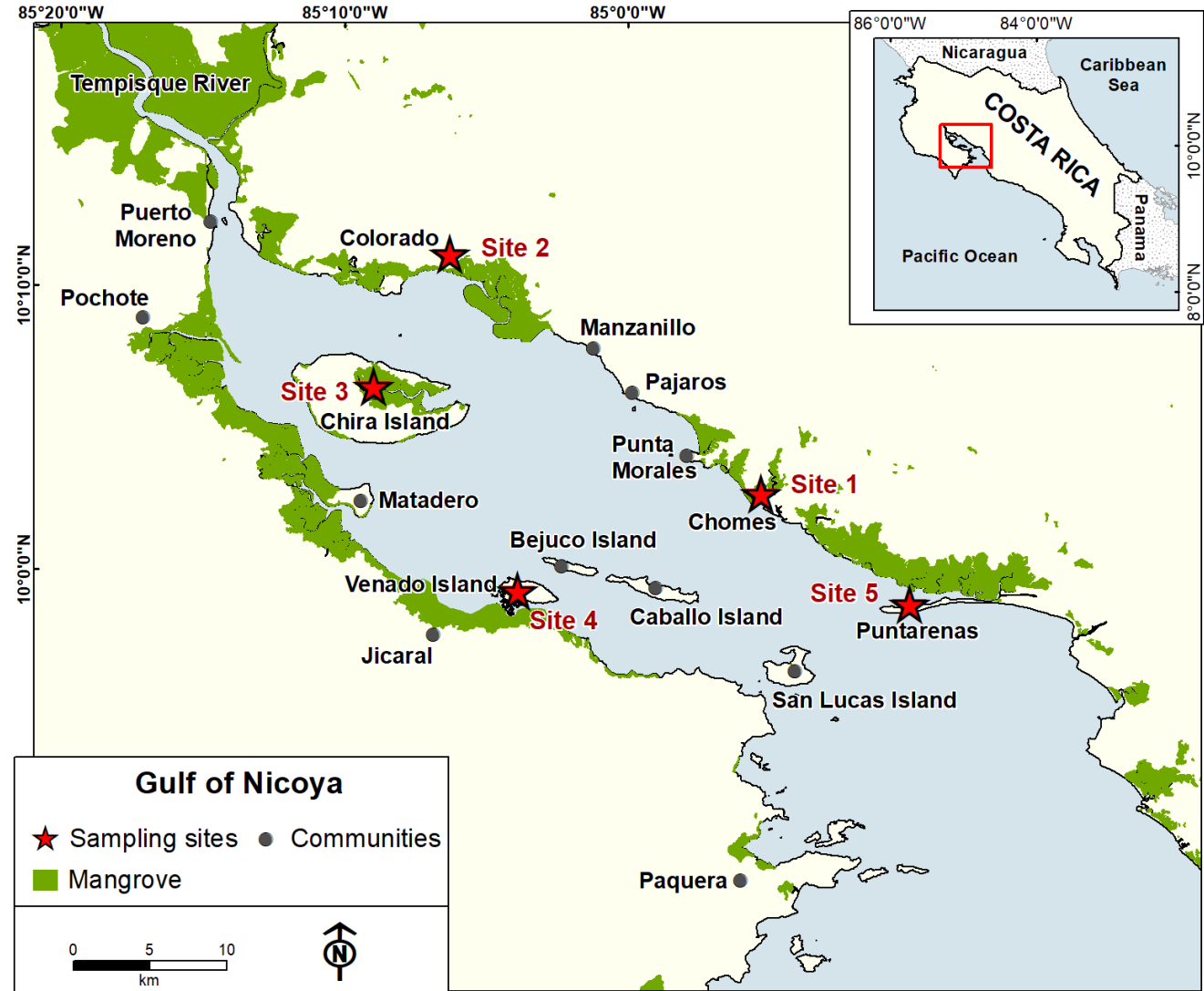
- **100% de individuos contenía microplásticos**
- Total de 1101 piezas (226 partículas\* y 875 fibras).
- En promedio 36 piezas por pez.
- La mayoría de las partículas y fibras analizadas son de polipropileno.





### 3. Bivalvos *Golfo Nicoya*

Se analizó la presencia de MPs en 6 especies comerciales de bivalvos obtenidas de 5 sitios del Golfo de Nicoya







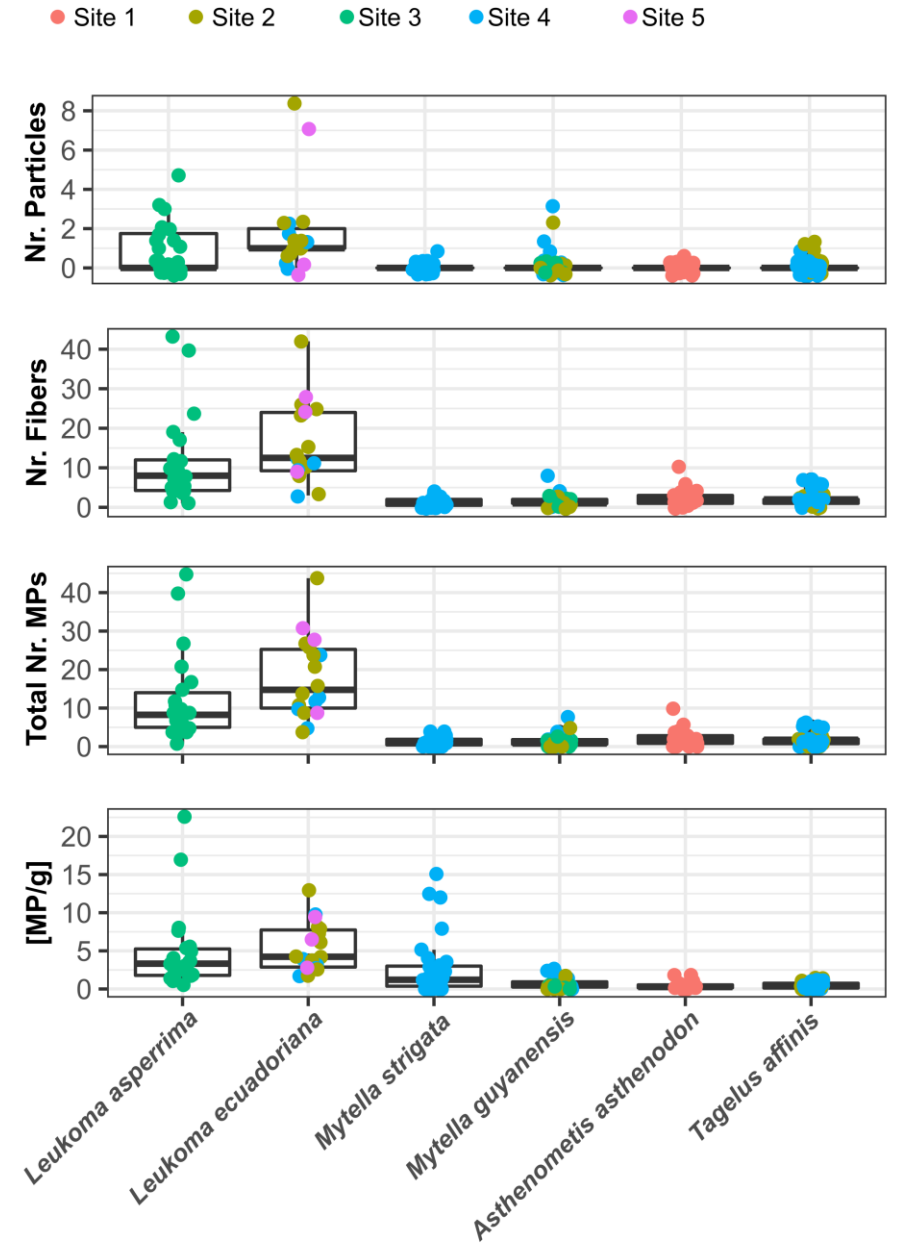
### 3. Bivalvos *Golfo Nicoya*

- Se detectaron MP en todas las especies
- Promedio de 5 piezas por individuo
- Mayoría fibras (92%)

Species	n	% Prevalence
<i>Leukoma asperrima</i>	22	100
<i>Leukoma ecuadoriana</i>	18	100
<i>Mytella strigata</i>	31	74
<i>Mytella guyanensis</i>	34	82
<i>Asthenometis asthenodon</i>	25	84
<i>Tagelus affinis</i>	38	82

Site	n	MPs	MP g <sup>-1</sup>
Site 1	25	2.1±2.2	0.5±0.5
Site 2	40	5.9±9.7	1.9±2.9
Site 3	32	8.7±10.8	3.4±4.8
Site 4	68	2.6±3.7	1.9±3.0
Site 5	3	22.4±11.9	6.2±3.3

Diferencias entre sitios Negro y azul color más común





## 4. *Procambarus*

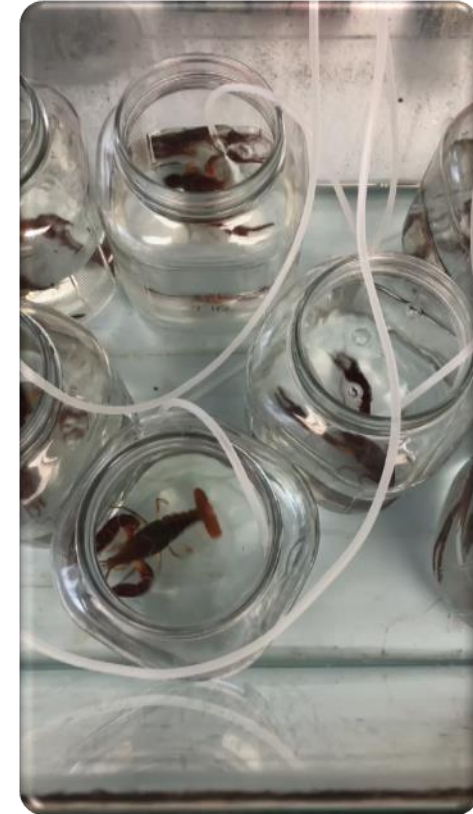
### *Procambarus clarkii*

Langosta de río, invasora, cosmopolita y muy tolerante al medio ambiente



500-1000  $\mu\text{m}$   
Irregular  
fragments &  
fibers (30%) +  
FOOD (70%)

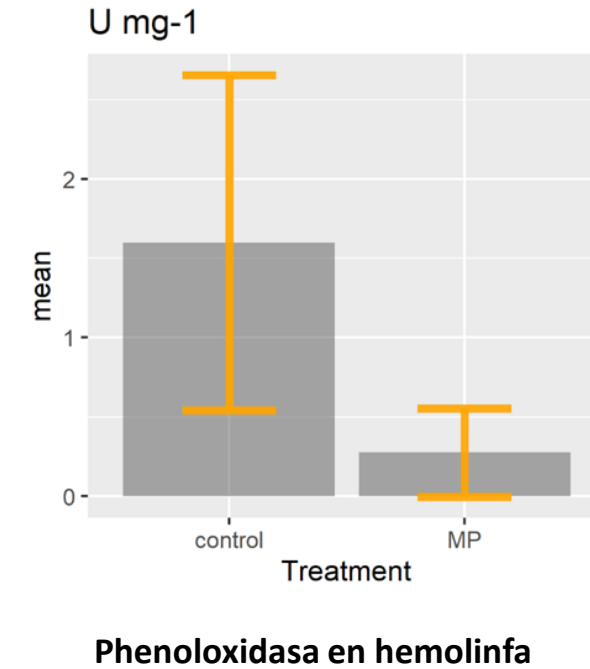
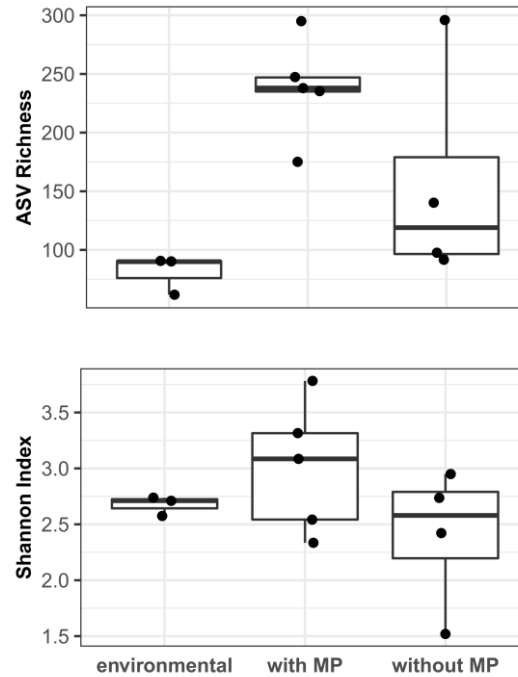
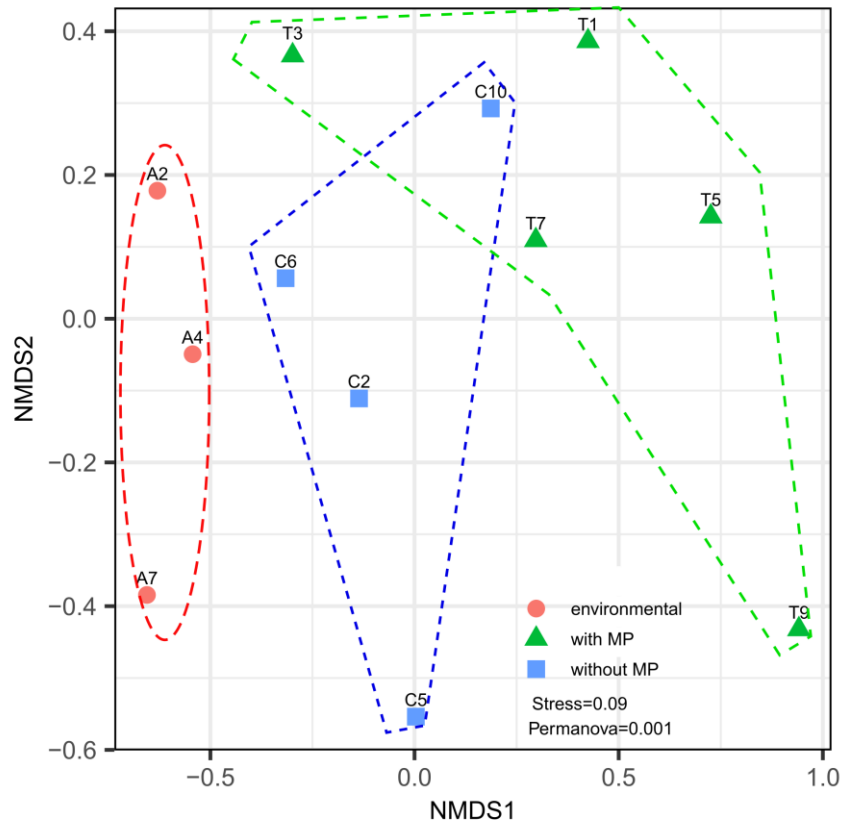
Ensayo de laboratorio. Alimentación con MP 96 horas. Análisis del microbioma





### 3. *Procambarus*

- Microplásticos cambian la microbiota del intestino
- Altera la respuesta inmune





# Análisis del plasmidoma microbiano en aguas contaminadas y sus posibles efectos en la salud y el ambiente

Keilor Rojas Jiménez  
Escuela de Biología, UCR  
[keilor.rojas@ucr.ac.cr](mailto:keilor.rojas@ucr.ac.cr)

17 de agosto 2023



INISA

Instituto de  
Investigaciones en Salud

UiO : **Department of Biosciences**  
University of Oslo



**FMic**



**RCE**



# Algunos conceptos

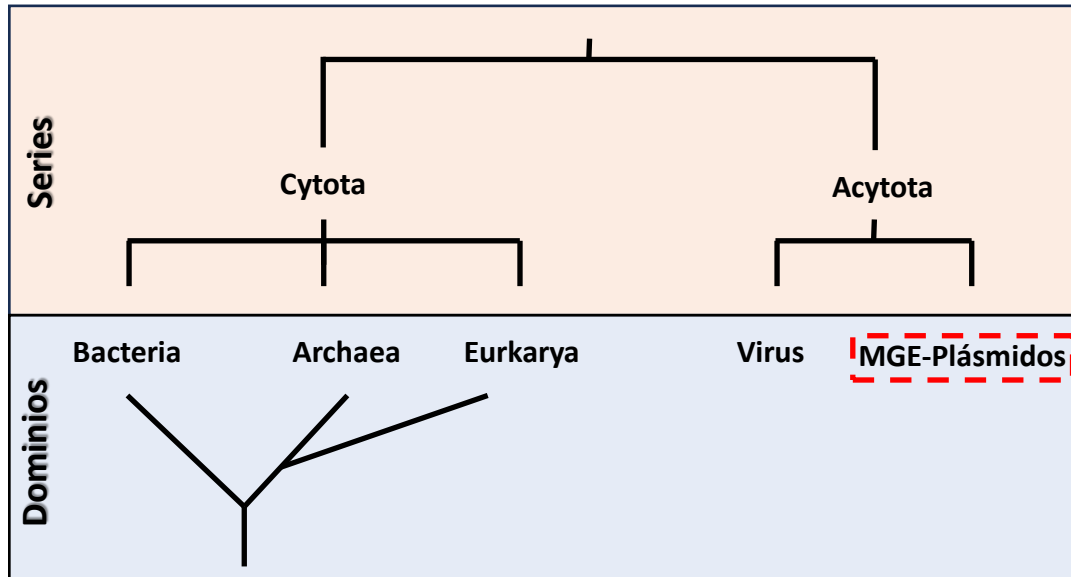
- **Elementos genéticos móviles (MGE):**  
Material genético capaz de insertándose dentro del genoma de otro organismo.
- **Plásmido:**
  - Moléculas ADN extracromosómico.
  - Se replican y transmiten independientemente.
  - Portan genes que confieren capacidad de adaptación al entorno, p.e. resistencia a antibióticos
- **Plasmidoma:** Conjunto de plásmidos en comunidad microbiana



<https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Plasmido>

# Plasmidoma

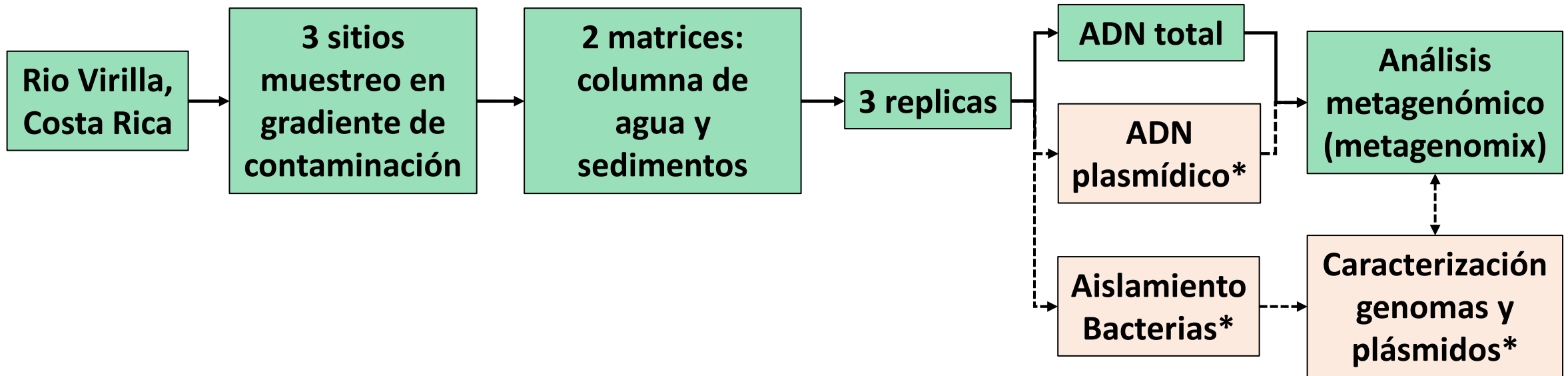
- Interviene en procesos ecológicos y evolutivos microbianos
- Impacto en la salud humana y del ambiente
- Podría considerarse un **superorganismo**



## Caso de estudio en ecosistemas acuáticos contaminados...

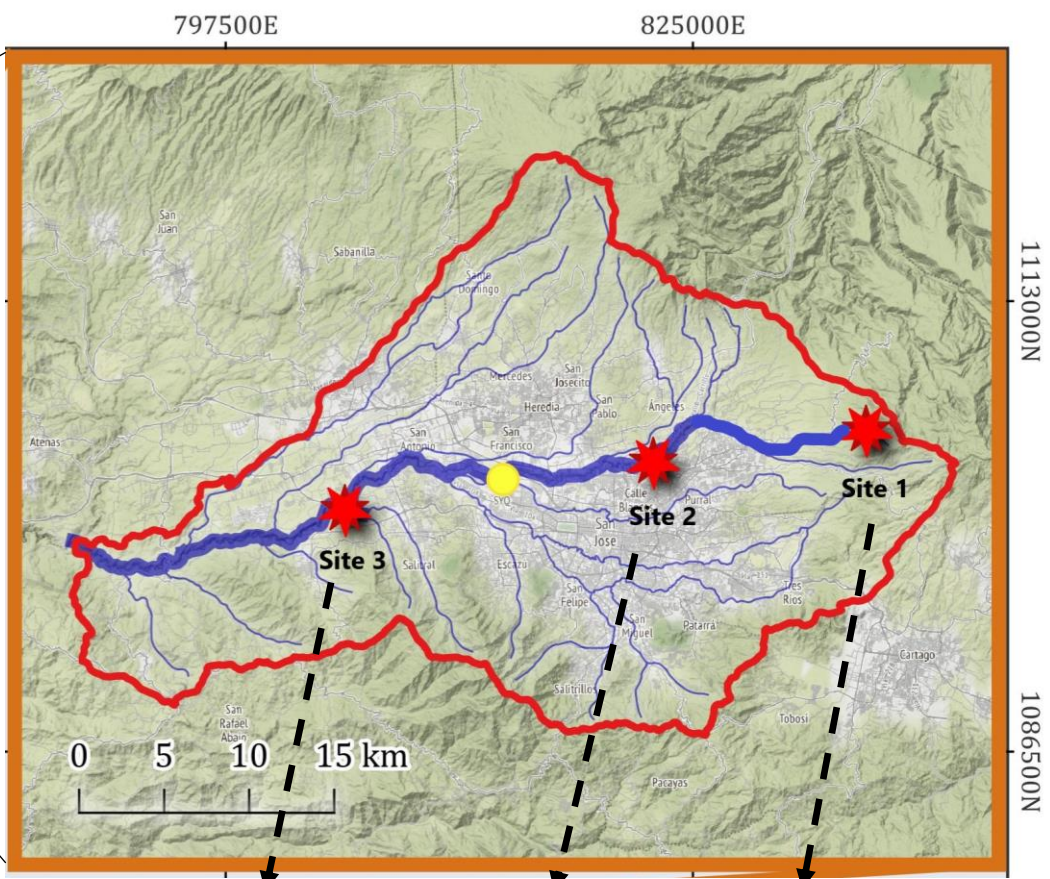
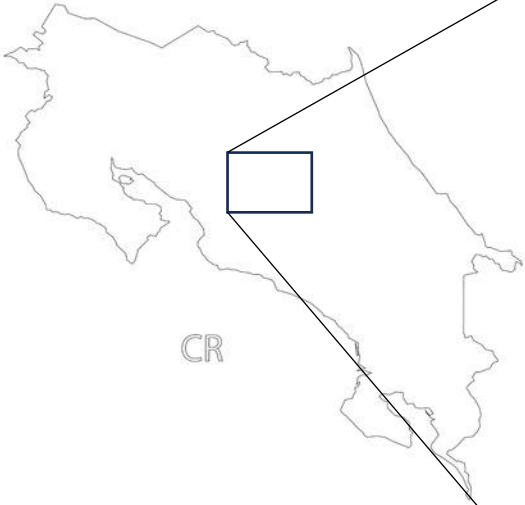
- Diversidad genómica y plasmídica
- Columna de agua versus sedimentos
- Tipos de plásmidos y su abundancia relativa
- Mecanismos de transferencia
- Los genes asociados (ARG)

# Diseño del trabajo

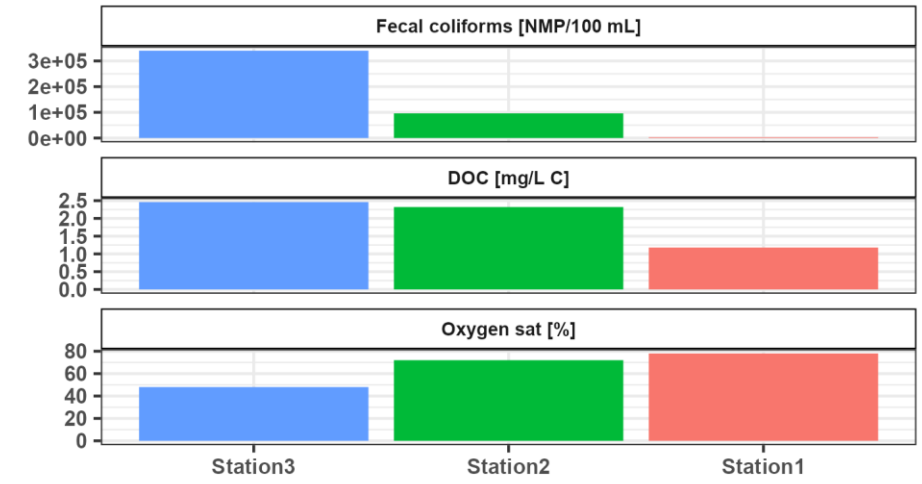


\* Estudios complementarios

# Cuenca del Rio Virilla, Costa Rica

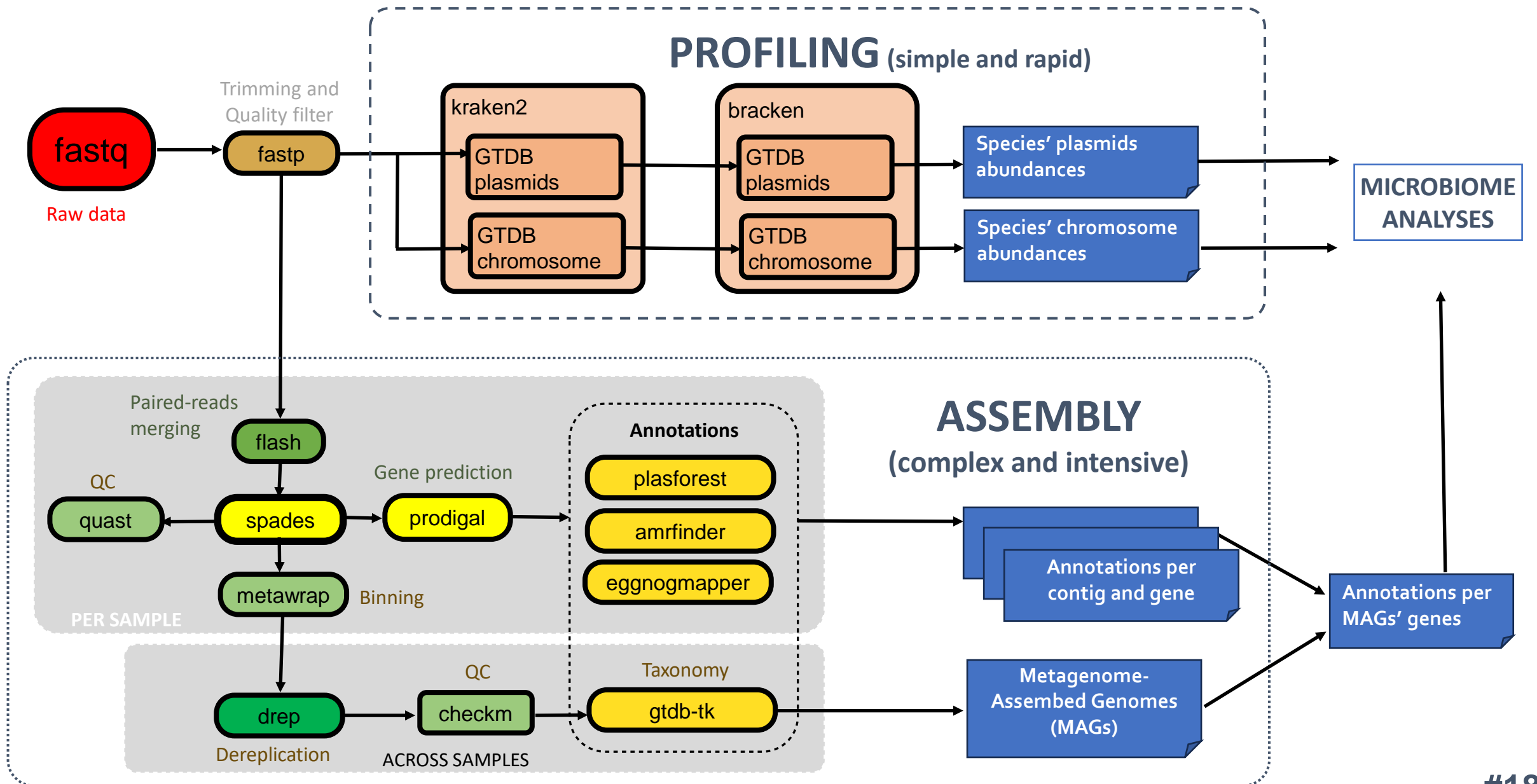


- Recoge aguas servidas mitad población país
- Uno de los más contaminados de Latinoamérica

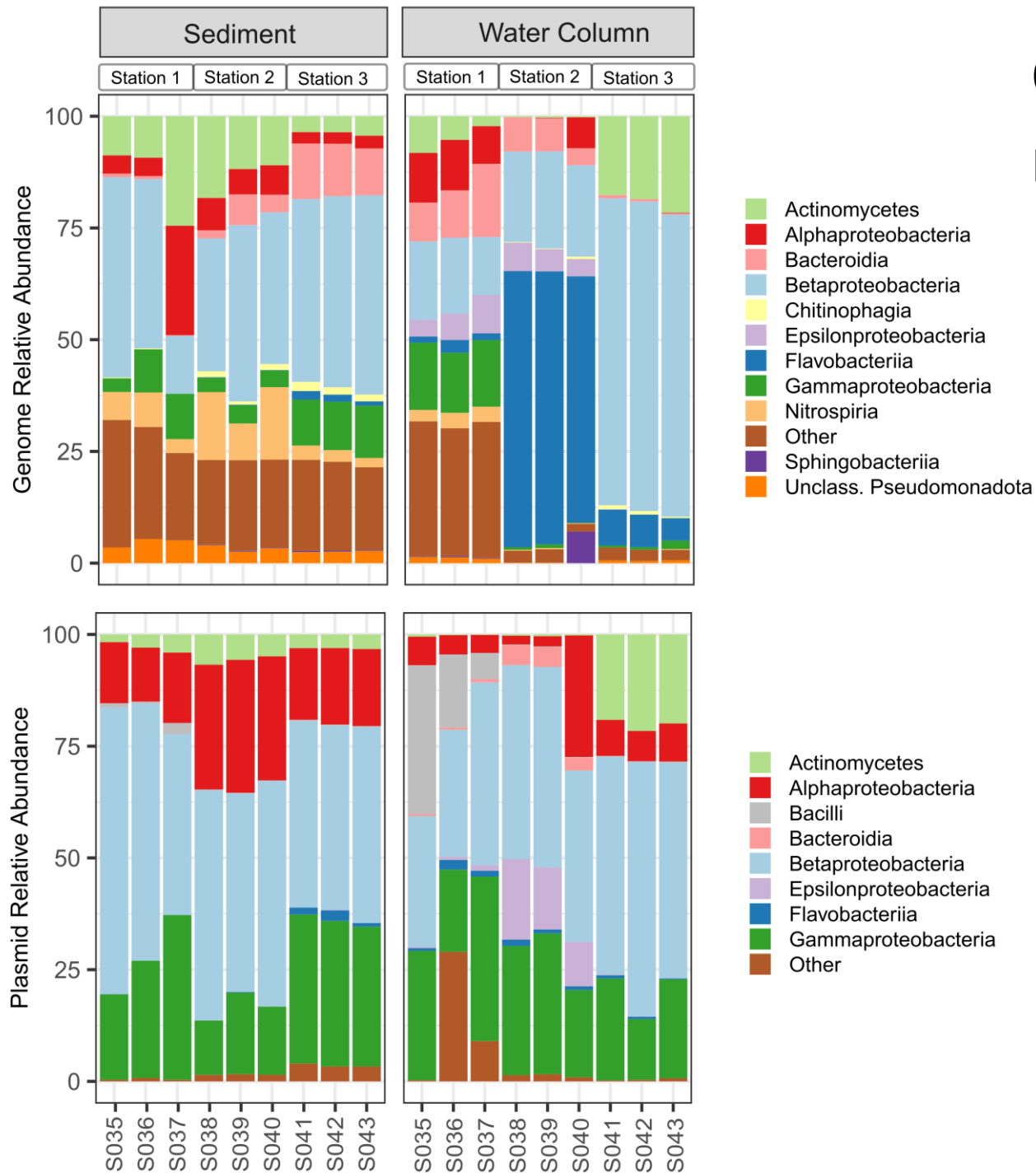




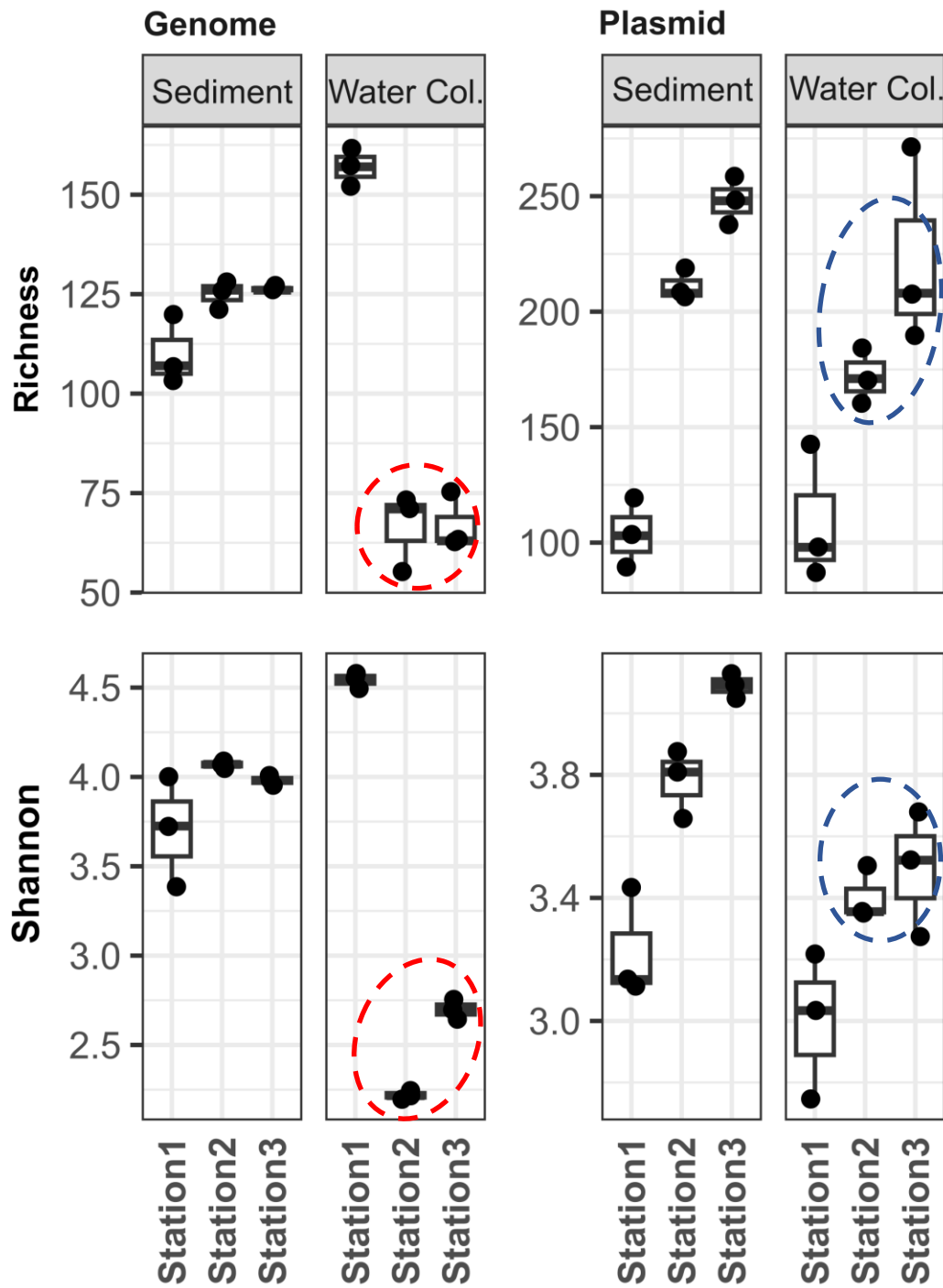
# Metagenomic analysis pipeline: profiling and assembly



# Composición comunidades microorganismos y plásmidos



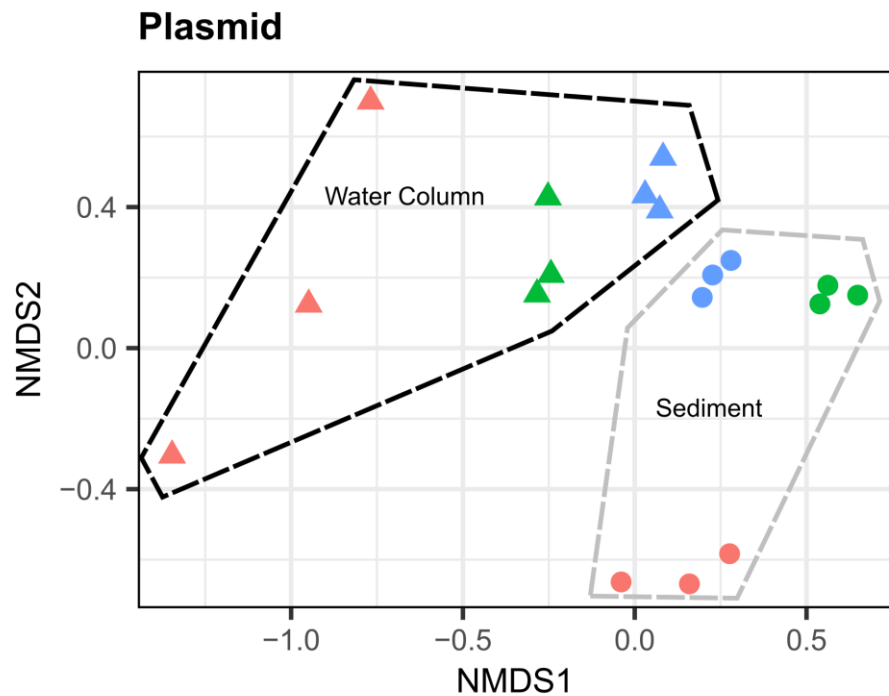
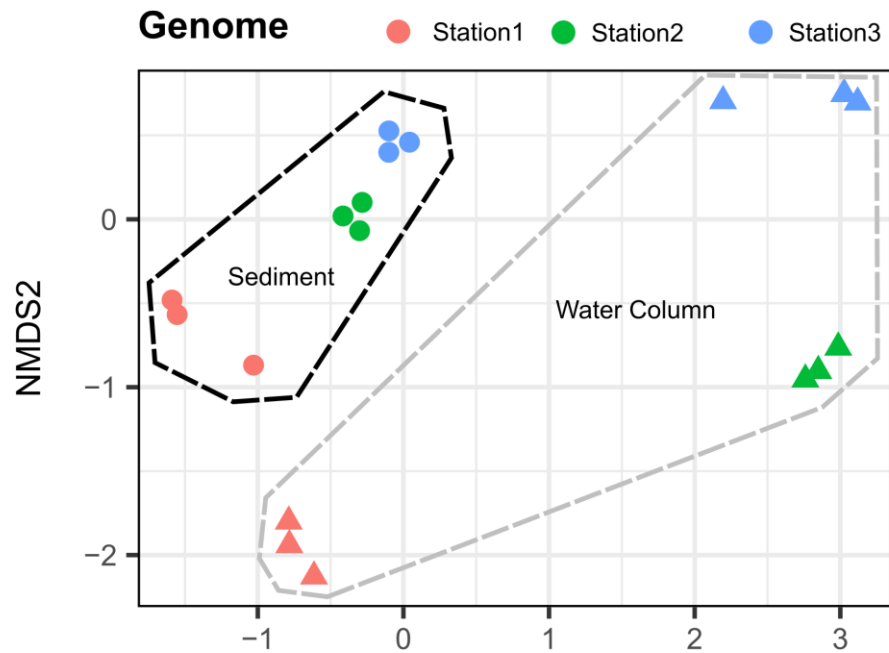
- Variaciones composición de entre:
  - Sedimentos y columna de agua
  - Sitios (gradiente de contaminación)
  - Genomas y plásmidos (p.e. Flavobacteria en genomas, Alpha-Gammaproteobacteria en plásmidos)



## Diversidad Alfa

- **Plásmidos:** A mayor contaminación, mayor riqueza y diversidad en sedimentos y columna de agua.
- **Genomas:** A mayor contaminación, menor riqueza y diversidad en columna de agua
- Menos microorganismos con más diversidad de plásmidos?
- Más eventos de transferencia?

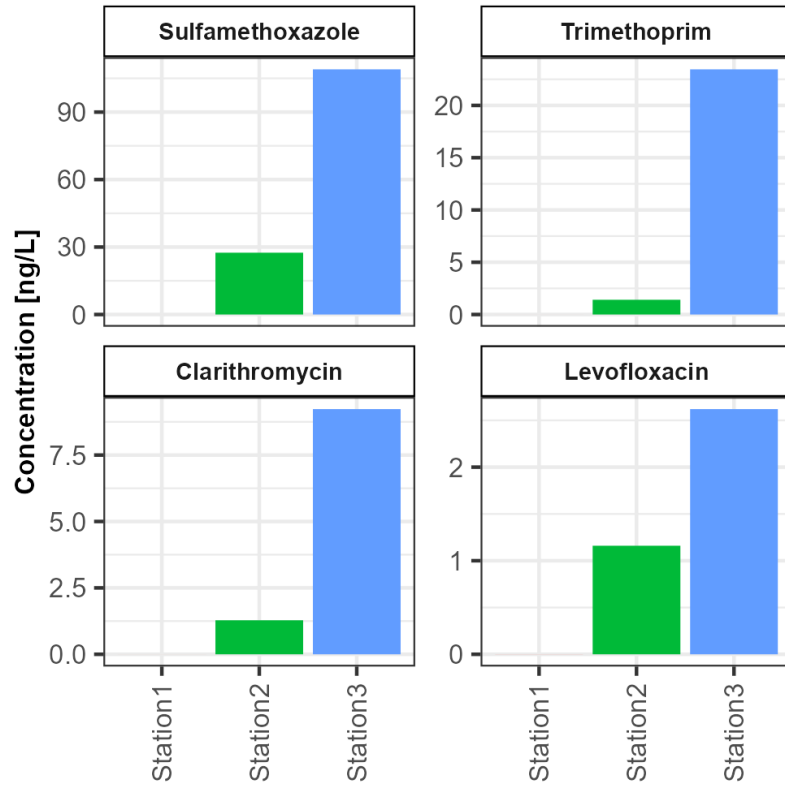
# Estructura de las comunidades



Diferencias significativas (Permanova,  $p=0.001$ ) en composición de comunidades, entre sitios y entre matriz ambiental, tanto para genomas como plásmidos.

## Genes de resistencia detectados por qPCR

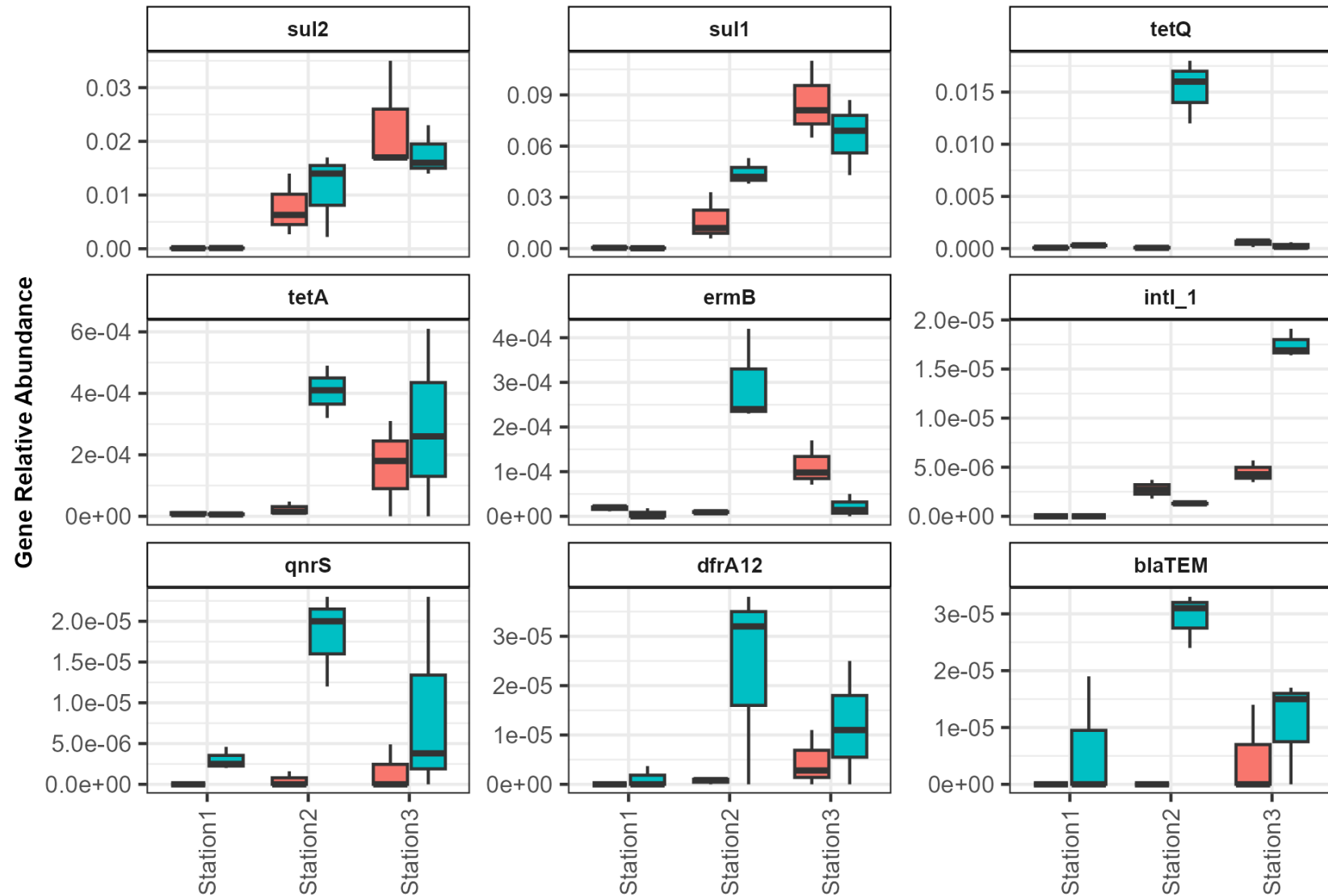
### Sustancias detectadas

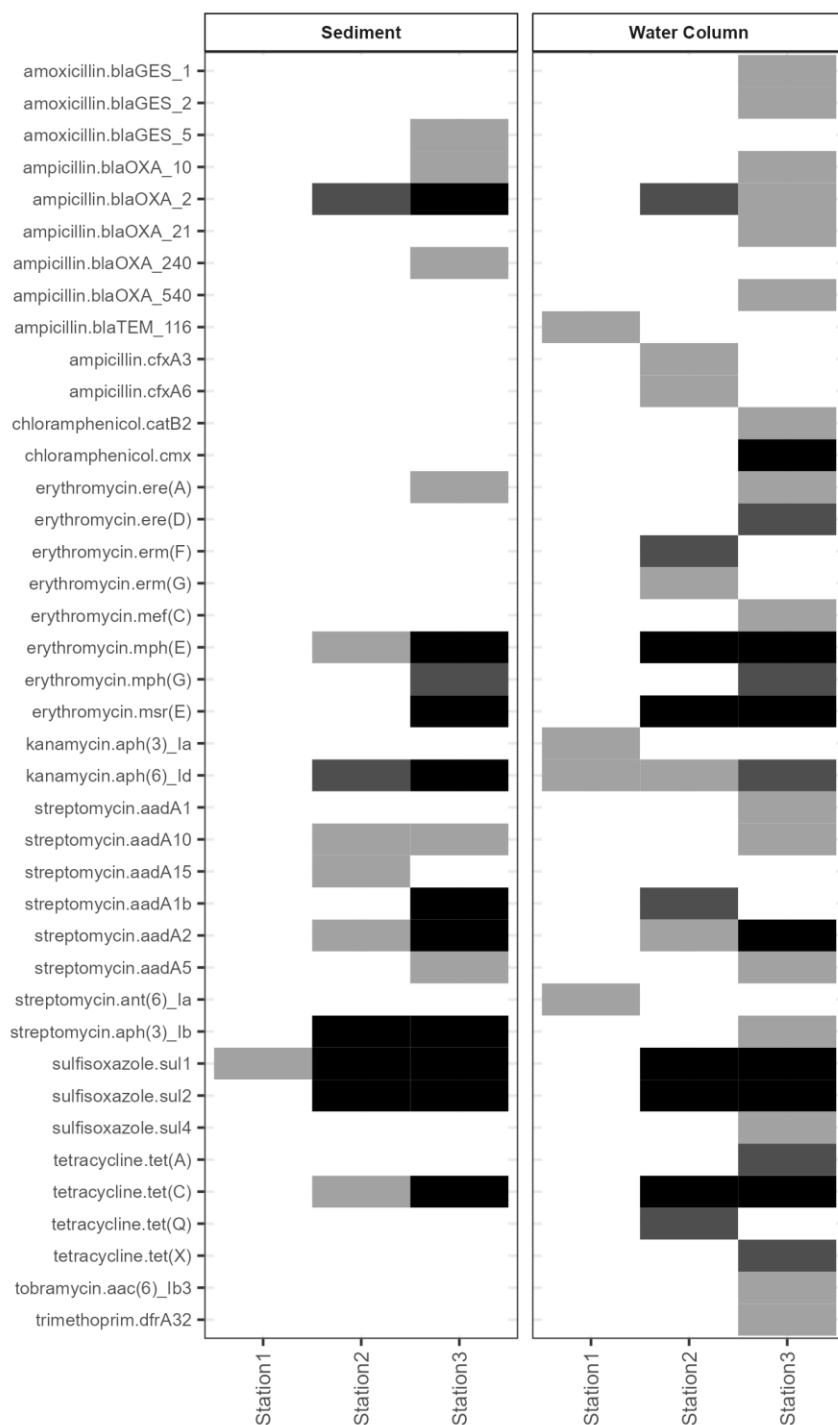


### Sustancias no detectadas

Amoxicillin, Ciprofloxacin,  
Erythromycin, Oxytetracycline,  
Penicillin V Tetracycline

Sediment Water Column





# Genes de resistencia a antibióticos

- **A mayor contaminación en sitio, mayor cantidad de genes y resistencias**
- 40 genes que confieren resistencia a 10 antibióticos
- Fenotipos de resistencias más prevalentes: erythromycin, streptomycin, sulfisoxazole
- Genes más abundantes: *sul1*, *sul2*, *mph(E)*, *tet(C)*
- Genes aún en ausencia del antibiotico en el medio
- Más en aguas que sedimento

*"El alcantarillado es la conciencia de la ciudad. Todas las cosas convergen en él y se confrontan unas con otras. En este lugar lúgubre hay oscuridad, pero no hay secretos. Cada cosa tiene su forma real, o al menos su forma definitiva. Se puede decir del vertedero que no es un mentiroso".*

Víctor Hugo, Los Miserables, 1862



**Los mismo podemos decir,  
desgraciadamente, del Rio Virilla**

# ¡Gracias!

## ¿Preguntas?



Un agradecimiento especial a Gabriel Jiménez por diseño gráfico