



Universidad
de Alcalá



Universidad
Rey Juan Carlos

MICROPLÁSTICOS COMO VECTORES DE TRANSMISIÓN DE BACTERIAS RESISTENTES A ANTIBIÓTICOS EN SISTEMAS ACUÁTICOS.

Presentado por: Laura Altieri Redondo.

Dirigido por: José Antonio PERDIGÓN MELÓN y Alice Luminita PETRE BUJAN.

Alcalá de Henares a 8 de Junio de 2020.

ÍNDICE

Resumen	2
1. Introducción	2 - 6
1.1 Objetivos	7
2. Resistencia a los antibióticos	7
2.1 Fuentes de contaminación de antibióticos	8
2.2 Transferencia de resistencia bacteriana	9-13
2.3 Determinación de resistencia a los antibióticos	13-14
3. Presencia de microplásticos	14-17
4. Microplásticos como vector	17-22
5. Conclusiones	22-23
6. Bibliografía	24-30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Patógenos emergentes y sus resistencias	5
Figura 2.1. Mecanismo de conjugación	12
Figura 2.2. Mecanismo de transducción	12
Figura 3.1 Producción de plástico a nivel mundial	15

RESUMEN

Los antibióticos fueron un gran descubrimiento en el campo de la medicina, pero con el paso del tiempo y su uso abusivo han pasado a ser una potencial fuente de contaminación en el medio acuático, debido a que las bacterias expuestas a ellos adquieren resistencia. Por otro lado, han aparecido los microplásticos como otro contaminante emergente en los ecosistemas acuáticos. En los últimos años ha despertado una gran preocupación por la expansión de la resistencia de las bacterias a los antibióticos y la posibilidad de que otros contaminantes presentes en el agua, como pueden ser los microplásticos, actúen como vectores y así faciliten el desarrollo de esta resistencia y su expansión. Algunos estudios recientes demuestran que las biopelículas bacterianas que presentan resistencia se ven favorecidas en ambientes en los que existe presencia de microplásticos y que, además existe una interacción entre ambos.

ABSTRACT

Antibiotics were a great discovery in the field of medicine. As time has passed and because of its abusive use, they have come to be a potential source of pollution in aquatic systems given that bacteria exposed to them become resistant. On the other hand, microplastics have appeared as another emerging pollutant in aquatic ecosystems. In the last few years, a great concern has arisen regarding the expansion of antibiotic resistance among bacteria and the possibility that other development of this cited resistance and its expansion. Some recent studies show that resistant bacterial biofilms grow easier in presence of microplastics and that, furthermore, there is interaction between both.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad el ser humano ha alcanzado un gran nivel de desarrollo, asociado a un nivel técnico que ha ido creciendo a lo largo de las décadas y que nos ha facilitado mucho la vida, haciéndola más confortable y segura, sobre todo en países con posibilidades de crecimiento, los países desarrollados. La evolución que se ha producido en la fabricación de algunos materiales y productos químicos ha ayudado a que esto sea posible, pero a su vez ha generado grandes problemas basados principalmente en la generación de contaminantes que afectan gravemente a los distintos ecosistemas, fundamentalmente los ecosistemas acuáticos.

Entre estos contaminantes hay dos que causan especial preocupación en la actualidad debido a su rápida expansión, los antibióticos y los plásticos, tanto a nivel de macrolásticos como de microplásticos.

El descubrimiento de los antibióticos fue de gran importancia a la hora de luchar contra los microorganismos causantes de infecciones en los seres vivos. Los antibióticos han revolucionado la medicina en muchos aspectos, han salvado millones de vidas y su descubrimiento fue un punto de inflexión en la historia de la humanidad (Davis y Davis 2010). Esto llevó a pensar que las infecciones bacterianas podrían ser controladas, pero las bacterias son microorganismos que presentan una gran capacidad de adaptación al medio en el que habitan y a las diferentes condiciones ambientales en las que se encuentran. Han vivido en la Tierra más de 4000 millones de años y durante ese tiempo han sabido adaptarse en innumerables ocasiones a la presencia de sustancias tóxicas que aparecían en su entorno, los antibióticos son una de esas sustancias y muchas bacterias han desarrollado mecanismos de adaptación, conocidos actualmente como resistencia, lo que lleva a reconocerlas como bacterias resistentes a antibióticos (ARB) (Bennett, 2008). La aparición de bacterias resistentes a múltiples fármacos en el medio ambiente ha sido durante mucho tiempo un problema creciente de salud pública (Song *et al.*, 2020).

Se entiende por bacterias resistentes a los antibióticos (ARB) a las que poseen la capacidad de soportar los efectos de los antibióticos destinados a eliminarlas o controlarlas. Un antibiótico es cualquier compuesto químico utilizado para eliminar o inhibir el crecimiento de organismos infecciosos tales como las bacterias (Esteva *et al.*, 2011).

En 1928, Alexander Fleming descubrió la penicilina y con ella comenzó la era de los antibióticos, conocida como “edad de oro” (Prabhu *et al.*, 2014). Fleming advirtió acerca del desarrollo potencial de bacterias resistentes a la penicilina si se usaba en bajas dosis o durante un período demasiado corto de tratamiento, de forma que las bacterias estuviesen expuestas al fármaco, pero no todas fueran eliminadas. En su discurso de recogida del premio Nobel por el descubrimiento de la Penicilina, el 11 de diciembre de 1945, ya advertía de esta posibilidad “La penicilina es, a todos los efectos, no venenosa, por lo que no hay necesidad de preocuparse por administrar una sobredosis y envenenar al paciente. Sin embargo, puede existir un peligro en la subdosificación, no es difícil hacer que los microbios sean resistentes a la penicilina en el laboratorio al exponerlos a concentraciones no suficientes para matarlos, y lo mismo ocasionalmente ha sucedido en el cuerpo”.

La existencia de bacterias resistentes a los antibióticos (ARB) no es sorprendente, ni es nueva para los científicos. Los antibióticos son sustancias químicas naturales producidas por un microorganismo que son perjudiciales para otros, con el fin de controlar el crecimiento de estos microorganismos competidores que habitan en el mismo nicho, pero para que el organismo productor del antibiótico no sea destruido por la sustancia que genera debe tener resistencia frente a ese antibiótico (Cundliffe, 1989; Hopwood, 2007).

La resistencia es un proceso natural evolutivamente conservado que ayuda a los microorganismos a competir entre ellos por los nichos que quieren conquistar en la naturaleza. Los procesos de resistencia están ampliamente distribuidos en el reino microbiano y han sido bien descritos para una gran variedad de comensales y patógenos.

Por lo tanto, no es sorprendente que se encuentren bacterias resistentes en cualquier ambiente en el que se realicen investigaciones (Kümmerer, 2009). Pero en las últimas décadas se ha observado una frecuencia creciente de bacterias que generan resistencia a antibióticos, esto se ha acelerado debido a un uso excesivo e incontrolado de los mismos a lo largo de varios años (Kunkalekar *et al.*, 2014; Graham *et al.*, 2011). El mal uso de los antimicrobianos en medicina, en veterinaria y en agricultura ha dado lugar a fuertes presiones sobre las comunidades de bacterias

ambientales y a la difusión de sus genes de resistencia (ARG), así como de agentes selectivos que se mueven entre los diferentes ecosistemas (Acevedo *et al.*, 2015).

Numerosos científicos hablan de la posible era “post-antibióticos”, debido a la gran resistencia que están adquiriendo las bacterias frente a los antibióticos actuales. Esto lleva a pensar que en un futuro no muy lejano los antibióticos dejarán de cumplir con su cometido. En los últimos años, se han aprobado 5 nuevos antibióticos y se siguen buscando más con el fin de poder seguir erradicando infecciones bacterianas (Sosa, 2016), pero el desarrollo de nuevos antibióticos no es la solución ya que con el tiempo se desarrollarían nuevos tipos de resistencia frente a estos nuevos antibióticos (Pruden *et al.*, 2013).

El control del aumento de ARB y ARG es una tarea complicada, según Collier y Acar (2009) “no importa cuántos medicamentos se utilicen, ni cuánto dinero y recursos se empleen para librar la guerra contra la resistencia, ésta siempre prevalecerá. La fuerza de billones y trillones de microorganismos, combinada con la antigua fuerza de la evolución inevitablemente dominará nuestros antibióticos. Los seres humanos nos veremos obligados a convivir con el hecho de la resistencia a los antibióticos”. Se han propuesto diferentes estrategias para reducir el impacto de este fenómeno y limitar su propagación. Cualquier estrategia de control de la resistencia a los antibióticos debe estar basada en una mejor gestión de los antibióticos (Pruden *et al.*, 2013), y es necesario que se haga un uso responsable de los antibacterianos para así evitar que se alcance la resistencia a los mismos por parte de las bacterias patógenas (Sosa, 2006).

En la Figura 1.1 podemos observar las principales bacterias patógenas y resistentes a antibióticos. En este estudio se las señala como las más abundantes en ecosistemas acuáticos (Sosa, 2016).

Para comprender completamente el desarrollo de la resistencia, tendremos que abordar el estudio de los antibióticos y sus genes de resistencia (Martínez, 2009), ya que además de existir el problema de que los antibióticos generan resistencia en algunas bacterias, estas bacterias que han adquirido esa resistencia se la transfieren a otras bacterias ambientales y a patógenos humanos, inhibiendo el efecto de los antibióticos en futuras infecciones (Martínez, 2009; D'Acosta *et al.*, 2006; Acevedo *et al.*, 2015).

BACTERIUM	GRAM STAIN	RESPIRATION	PROBLEMATIC RESISTANCES
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	Facultative anaerobe	β -lactams, glycopeptides
<i>Enterococci</i>	+	Facultative anaerobe	β -lactams, glycopeptides, aminoglycosides
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	+	Aerotolerant anaerobe	β -lactams, macrolides, quinolones
<i>Clostridium difficile</i>	+	Obligate anaerobe	β -lactams, quinolones
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	+	Aerobe	Rifamycins, quinolones, aminoglycosides
<i>Escherichia coli</i>	-	Facultative anaerobe	β -lactams, quinolones, aminoglycosides
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	Facultative anaerobe	All classes except polymyxins
<i>Acinetobacter</i>	-	Facultative anaerobe	All classes
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	Facultative anaerobe	β -lactams, quinolones, aminoglycosides
<i>Enterobacter</i>	-	Facultative anaerobe	β -lactams, quinolones
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-	Aerobe	β -lactams, quinolones, tetracyclines, macrolides

Figura 1.1 Patógenos emergentes y sus principales resistencias (Sosa, 2016).

Las bacterias que portan genes resistentes a antibióticos lo hacen en sus elementos genéticos móviles (plásmidos, integrones y transposones), lo que facilita la transmisión de esa resistencia a otras bacterias y con ello la resistencia inmediata a varios fármacos de las cepas receptoras (Venegas *et al.*, 2009). Además, esta situación puede enriquecer a la población de microorganismos resistentes y reducir la población de microbiota susceptible, por ejemplo, las cianobacterias (responsables de una elevada proporción de liberación de O₂ y fijación de CO₂). No hay estudios que demuestren que la población de cianobacterias se haya visto afectada, pero esto nos hace ver el riesgo que existe si se destruyen poblaciones de microorganismos y con ello también desaparecen las actividades que estas poblaciones desempeñan a nivel global, viéndose afectado el medioambiente (Martínez, 2009).

En la actualidad se compara la resistencia a antibióticos con algunos aspectos de la contaminación por metales pesados. (Martínez, 2009; Acevedo *et al.*, 2015) Al igual que los antibióticos, los metales pesados son componentes naturales presentes en el ecosistema. Sin embargo, su utilización por los seres humanos ha aumentado su biodisponibilidad, lo que conduce a cambios dramáticos en las poblaciones bacterianas presentes en los ecosistemas contaminados.

Los metales pesados afectan a todas las formas de vida, mientras que los antibacterianos solo afectan a las comunidades de microorganismos, y por lo tanto su interés y su estudio están menos desarrollados que la contaminación por metales pesados (Martínez *et al.*, 2010).

Los plásticos tienen grandes propiedades técnicas que, junto a un precio asequible, les confieren un gran interés como material para la fabricación de múltiples productos. Su uso y desarrollo han provocado un crecimiento continuado de materiales plásticos desde el final de la segunda guerra mundial. Los primeros plásticos se diseñaron para garantizar una alta durabilidad y una larga vida útil, pero esas propiedades y el gran uso que se hace de estos se ha convertido en un gran problema ya que son poco o nada degradables en el medio ambiente. Esto ha conducido a una incesante acumulación de residuos plásticos. En los últimos años se ha aceptado que la degradabilidad en los plásticos que tienen una vida limitada y que ya han cumplido su función es un valor añadido a la hora de utilizarlos para la fabricación de materiales (Krzan *et al.*, 2006).

Desde finales del siglo pasado se ha demostrado que muchas veces los residuos plásticos son un peligro invisible, son residuos plásticos de tamaño muy pequeño, menos de 5mm, llamados microplásticos y nanoplásticos, aparecen en el medioambiente ya sean porque se han fabricado así o por los procesos de degradación de plásticos de mayor tamaño (Herrera *et al.*, 2019).

Las partículas microplásticas son especialmente preocupantes ya que, debido a su tamaño, pueden ingresar a las redes alimentarias marinas, pueden ser transportados a puntos muy lejanos del foco de emisión y pueden arrastrar en su superficie elementos contaminantes de distintas naturalezas, llegando a lugares del planeta en los que no se encontraban contaminantes debido a su lejanía y aislamiento (Herrera *et al.*, 2019). Estos microplásticos pueden contribuir a la propagación de antibióticos y ARB, lo que representan una importante amenaza social y económica (Carusso, 2019)

1.1- OBJETIVOS

En esta revisión bibliográfica se va a analizar si la presencia de microplásticos puede favorecer el desarrollo de ARB y a su dispersión por diferentes medios acuáticos. Para llevar a cabo esta revisión, el trabajo se ha dividido en tres partes: en la primera se estudiará la aparición y propagación de resistencia bacteriana a los antibióticos. En la segunda parte se estudiará la influencia de los microplásticos como contaminante emergente y en la última parte se estudiará el efecto de los microplásticos como vector asociado a la dispersión de ARB y ARG en los medios acuáticos.

Todo el estudio se realizará basándose en artículos científicos y libros.

2. RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS

La resistencia que las bacterias desarrollan frente a los antibióticos se encuentra codificada en unos segmentos del ADN llamados genes de resistencia a los antibióticos (ARG) y surge desde un principio de mutaciones aleatorias del material genético.

Una mutación es un cambio heredable en la secuencia de bases de los ácidos nucleicos que constituyen el genoma de un organismo, estas mutaciones se producen en condiciones naturales con baja frecuencia por lo que solo en los microorganismos con alta tasa de reproducción y crecimiento (como las bacterias), las mutaciones pueden alcanzar cifras suficientemente altas como para que se puedan detectar en periodos cortos de tiempo. Si una de estas mutaciones que afectan a una bacteria de forma aleatoria permite que la bacteria sobreviva en presencia del antibiótico, éste va a ejercer una presión selectiva que va a favorecer que la célula que ha mutado supere en velocidad de crecimiento a la cepa original, que en su mayoría morirá. Esto implica la aparición de una población bacteriana resistente, mientras que la población bacteriana sensible morirá (Betancor *et al.*, 2008; Torres-Manrique, 2012).

La exposición a antibióticos y otros productos antimicrobianos, ya sea en el cuerpo humano, en animales o en el medioambiente, favorece una presión selectiva que fomenta la resistencia y favorece las cepas "naturalmente resistentes" (Collier y Acar, 2009).

2.1- FUENTES DE CONTAMINACIÓN DE ANTIBIÓTICOS

Dada la presión selectiva que ejerce la presencia de antibióticos sobre las ARB, en aquellos entornos donde encuentre antibióticos en mayores concentraciones serán donde las ARB se desarrollen con más velocidad. La principal fuente de contaminación por antibióticos son los efluentes de las EDAR, en las que se encuentra la carga de antibióticos proveniente de las excreciones de la población, de los desechos de las farmacéuticas y de los hospitales, en los que los residuos presentan grandes cantidades de estas sustancias (Davies y Davies, 2010).

Otro foco de incorporación de antibióticos al medio son las grandes granjas de producción animal, en las que se trata a los animales para evitar enfermedades y para mejorar su crecimiento. En este caso la orina y las heces de los animales, que son usados como abono en la agricultura, contienen antibióticos. Finalmente desembocan en ríos y grandes masas de agua, incorporándose al ecosistema acuático. Un tercer foco de contaminación acuática, tanto marina como de agua dulce, son los desechos industriales y urbanos, las actividades turísticas en barcos o la pesca con redes (Imran *et al.*, 2019).

En el medio coexisten varios contaminantes de distintas procedencias y naturalezas, en el caso de ambientes contaminados con mezclas químicas se cree que puede haber una co-selección entre los químicos y los antibióticos, aumentando la tasa de dispersión de ARG. Pero para confirmar que existe una co-selección entre contaminantes es necesario comenzar investigaciones en esta línea (Imran *et al.*, 2019).

Wales y Davies (2015), encontraron evidencias de que la co-selección entre antibióticos y metales en el agua llevaba a una mayor frecuencia de ARB. Cuando en el ambiente se unen biocidas y metales se activan mecanismos que aumentan la resistencia. Demostraron que *Ralstonia Mannitolilytica*, patógeno humano, se enriquecía en ambientes con cadmio y ARB y por tanto demostraban que existe co-selección.

2.2- TRANSFERENCIA DE RESISTENCIA BACTERIANA.

En la naturaleza existen bacterias y hongos que producen antibióticos de forma natural para su defensa en la competencia con otros organismos. El gran problema es el uso masivo de estos medicamentos y su dispersión en el medio ambiente.

Los antibióticos tienen que atravesar las envolturas celulares para poder actuar dentro de la bacteria y alcanzar su blanco. Tienen que llegar al blanco en una concentración suficiente como para causar un efecto en la bacteria. Los antibióticos tienen capacidad selectiva, pueden actuar sobre un tipo de bacteria o sobre varias, son los antibióticos de espectro reducido o de amplio espectro (Jayaraman, 2009).

Los mecanismos de resistencia que presentan las bacterias para anular los efectos de los antibióticos pueden ser de distinta naturaleza: esta resistencia puede deberse a la mutación del blanco sobre el que tendría que actuar el fármaco (de forma que éste no pueda ejercer su efecto inhibitorio antibiótico dentro de la bacteria), el reemplazo de ese blanco, el cambio de la envoltura (en este sentido las bacterias pueden modificar su pared celular haciéndolas impermeables al antibiótico), por expulsión de los agentes antibióticos de la célula mediante bombas de efusión (alcanzando concentraciones que no sean peligrosas) o por inactivación de agentes antibióticos produciendo enzimas que modifican o degradan el antibiótico, como la β -lactamasa (Moreno *et al.*, 2009).

Algunas bacterias han sido siempre resistentes a algún tipo un agente antibiótico particular por naturaleza de su fisiología o bioquímica, es decir lo poseen todas las bacterias de la misma especie (resistencia intrínseca). Los cambios en el genoma bacteriano, a través de la mutación o la adquisición horizontal de genes, pueden conducir a una alteración en las características estructurales y funcionales de las bacterias involucradas, lo que puede dar como resultado cambios que conducen a la resistencia contra un antibiótico particular. Esto se conoce como resistencia adquirida, ya que solo la poseen ciertas bacterias de la especie (Kümmerer, 2009).

La resistencia que adquieren las bacterias es un problema creciente, debido a que la población de bacterias no patógenas es muy abundante en el medio ambiente y las bacterias patógenas humanas o animales conviven con las no patógenas, convirtiéndose en receptoras de ARGs. Esto implica que las bacterias patógenas

entran al organismo con una resistencia adquirida sobre los antibióticos y por lo tanto, aunque tratemos una infección no obtendremos resultado.

Esto es un gran problema debido a que una infección que puede ser tratada con cierta facilidad en condiciones de no resistencia puede convertirse en una infección para la que no haya un tratamiento y tenga consecuencias fatales (Martínez, 2009; D'Acosta *et al.*, 2006; Acevedo *et al.*, 2015).

En la década de los años 50, científicos japoneses identificaron que los genes responsables de conferir resistencia a un determinado microorganismo (ARG) podían transmitirse entre células “vecinas”, esto cambió la forma de afrontar el problema y aumentó la preocupación debido a que la resistencia no solo podría transmitirse de células madres a hijas (transferencia vertical o heredable), sino que también podría ocurrir entre células próximas aunque no relacionadas (transferencia genética horizontal, HGT), indicando que los ARG podrían diseminarse entre toda una población completa de bacterias patógenas (Davies, 1995).

Para comprender como se produce la transferencia de genes resistentes entre las bacterias tanto de la misma especie como de especies distintas es fundamental saber cómo se organiza el genoma bacteriano. Las bacterias tienen una estructura denominada nucleoide, éste contiene el cromosoma bacteriano que es una molécula con todo el ADN de la bacteria enrollado y en forma circular. Además, en este nucleoide podemos encontrar ARN, polimerasas, enzimas y proteínas.

Una gran cantidad de bacterias poseen también ADN extracromosómico circular y cerrado, denominado plásmido. Los plásmidos son unidades de replicación independientes del cromosoma bacteriano por lo que se pueden encontrar una o varias copias del mismo plásmido dentro de una célula bacteriana. Los plásmidos generalmente no tienen genes que aporten información esencial para el funcionamiento de la bacteria, pero si llevan genes funcionales que le confieren nuevas propiedades que en algunos casos les son útiles para su adaptación al crecimiento en determinados ambientes, muchos de los genes que aportan resistencia están presentes en los plásmidos (Bennet, 2008; Betancor *et al.*, 2008).

El hecho de que el intercambio genético se pueda dar entre diferentes especies nos ayuda a entender que gran aumento de resistencia en los últimos años. Existen tres mecanismos de transferencia horizontal de genes.

TRANSFORMACIÓN

Es un mecanismo por el que las bacterias integran en su genoma un ADN exógeno por procesos de rotura e inserción. Es necesario que el ADN exógeno tenga un tamaño adecuado y que sea de doble cadena. Las bacterias poseen en su superficie unas proteínas que reconocen el ADN. Una vez las proteínas han reconocido el ADN que se encuentra en el medio, es introducido en la bacteria. Se separan las dos cadenas de ADN y una de ellas se hidroliza, la otra puede ser incorporada por recombinación en el genoma bacteriano.

CONJUGACIÓN

Se produce una transferencia directa de ADN de una bacteria a otra, no es recíproco, hay una bacteria donadora y otra receptora. Las células que contienen el plásmido F se denominan F+ y las que carecen del mismo se denominan F-. Las bacterias denominadas F+ poseen unos pelos sexuales llamados pili, esto les permite unirse a las bacterias F- y que se de la conjugación. El proceso comienza con la replicación del plásmido circular F, se unen las bacterias y se transfiere el factor F a la bacteria receptora. Al haber sido replicado antes de la transferencia se queda una copia en la bacteria donadora.

El plásmido F contiene secuencias de inserción denominadas IS, esto significa que tiene lugares específicos de recombinación homóloga y por tanto que puede ser insertado en el cromosoma bacteriano. La bacteria receptora pasa a ser F+. Existe además una estirpe bacteriana denominada Hrf, esta estirpe se diferencia de la F+ en que el factor F se ha integrado en el cromosoma bacteriano de una manera específica y para que la célula receptora se convierta en F+ es necesario que la donadora le transfiera todo su genoma, la conjugación no es tan larga en el tiempo como para que se transfiera todo el genoma y por tanto en la mayoría de los casos cuando las donadoras son Hrf, las receptoras no se convierten en F+

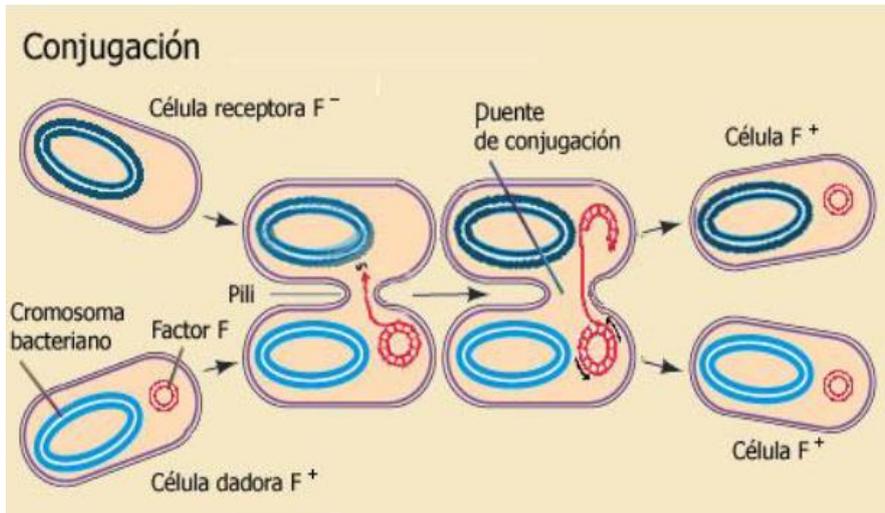


Figura 2.1 Mecanismos de conjugación.

<https://bioquimicaexperimental.files.wordpress.com/2017/02/transferencia-de-material-genc3a9tico.pdf>

TRANSDUCCIÓN

La transducción es un mecanismo de transferencia de material genético entre dos bacterias a través de un virus bacteriófago (virus que infecta a una bacteria).

En este caso la bacteria es infectada por un virus, el virus inserta su material genético y comienza a replicarse en el interior de la bacteria. Lo que sucede es que por error se inserta ADN bacteriano en la cubierta de los nuevos virus y por lo tanto cuando se produce la lisis y los virus salen de la bacteria, contienen ADN bacteriano que pasarán a otra bacteria que sean infectadas por el virus resultante.

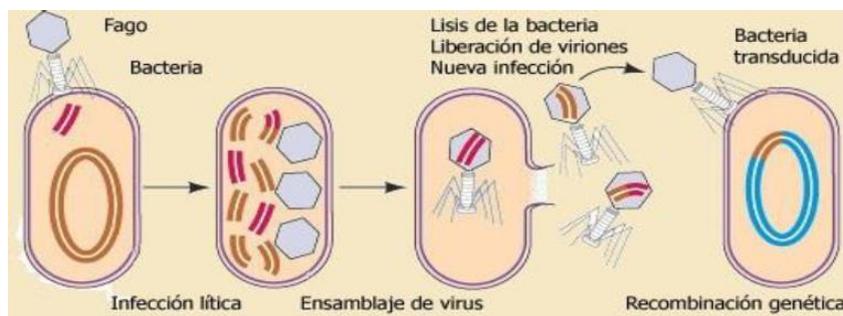


Figura 2.2. Mecanismo de transducción.

<https://bioquimicaexperimental.files.wordpress.com/2017/02/transferencia-de-material-genc3a9tico.pdf>

Una vez terminado el intercambio de genes entre dos bacterias, se da una recombinación genética, como hemos mencionado en los mecanismos anteriores. Esta recombinación consiste en una inserción de ADN de una célula donadora en el genoma de una célula receptora, resultando un único fragmento con ambos ADN. Este proceso sería por el cual la bacteria se convertiría en ARB (Sánchez *et al.*, 2012).

Estudios recientes han demostrado que la adquisición de genes de resistencia a los antibióticos (ARG) por bacterias patógenas en ambientes naturales va a ir en aumento (Abe *et al.* 2020). Los ARG se difunden ampliamente y persisten en la mayoría de los entornos, aún sin la presencia de una presión selectiva. A diferencia de los contaminantes químicos, que no se multiplican en el medio ambiente, los contaminantes genéticos como los ARG, pueden ser replicados y aumentar su abundancia en comunidades bacterianas en el medio ambiente, aunque se pare la fuente de emisión (Abe *et al.*, 2020).

Todo esto hace que las EDAR con tratamiento biológico de las aguas residuales, las que utilizan fangos activados, crean un entorno favorable para las bacterias y con ello, para el desarrollo y propagación de la resistencia. Esto se debe fundamentalmente a la existencia de un gran número de bacterias que conviven con nutrientes y con antibióticos en concentraciones residuales y en concentraciones subinhibitorias, lo que potencialmente confiere una ventaja selectiva a las bacterias que han adquirido resistencia (Pruden *et al.*, 2013).

2.3- DETERMINACIÓN DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS

Es necesario realizar estudios para saber si las colonias bacterianas presentan ARB y ARG, para ello se puede estudiar mediante cultivos de crecimiento bacteriano o técnicas moleculares.

Un método de aislamiento de bacterias para el estudio de su posible resistencia es el método de cultivo, ya sea general o selectivo. Se siembran las bacterias seleccionadas en un medio con uno o varios antibióticos con el fin de observar si se reproducen o no. En caso de que no se formen colonias no existe resistencia y la

concentración mínima inhibitoria de antibiótico es suficiente para acabar con las especies seleccionadas.

A la hora de seleccionar las bacterias a cultivar se suelen utilizar *Escherichia coli* y *enterococcus faecalis*, bacterias relacionadas con el tracto intestinal y las heces y que se utilizan para caracterizar la calidad microbiológica en el agua. Esto se debe a que son las bacterias más comunes en la contaminación fecal y por tanto las más fáciles de encontrar en los efluentes de las EDAR (Rizzo *et al.*, 2013).

Por otro lado, se estudian bacterias que tienen más presencia y supervivencia en el medio acuático y terrestre y que son habitantes típicos del agua, *Pseudomonas aeruginosa* y *Aeromonas spp.* Se seleccionan los taxones mencionados debido a su resistencia conocida y su habilidad para transmitirla (Gatica y Kaplan, 2015).

Las técnicas moleculares, se utilizan para saber si una bacteria contiene el gen de resistencia en su genoma. El hecho de que lo contenga no significa que la bacteria exprese resistencia, debido a que esto depende de la expresión de ARG dentro de la bacteria (Rizzo *et al.*, 2013).

El método molecular más extendido y que más se utiliza es el de la reacción en cadena de la polimerasa, PCR. La PCR se basa en replicar un fragmento de ADN que hemos seleccionado previamente, se obtienen de este único fragmento un gran número de copias que nos permiten identificarlo con más facilidad. Es necesario un fragmento de ADN de la bacteria que contiene ARG, ADN polimerasa, nucleótidos y cebadores (Betancor *et al.*, 2008). Con la PCR sabremos la existencia o no de un ARG seleccionado, pero no podemos saber si existe otro ARG que no conocemos.

3. PRESENCIA DE MICROPLÁSTICOS.

En 2016 la producción de plástico en Europa fue de 60 millones de toneladas, mientras que 2017 se cerró con una producción de 64,4 millones de toneladas. A nivel mundial encontramos cifras de 335 millones de toneladas en 2016 y 348 millones de toneladas en 2017. Estos datos nos indican que la producción de plástico aumenta anualmente y cómo podemos observar en la figura 3. Asia se encuentra a la cabeza de la producción mundial.

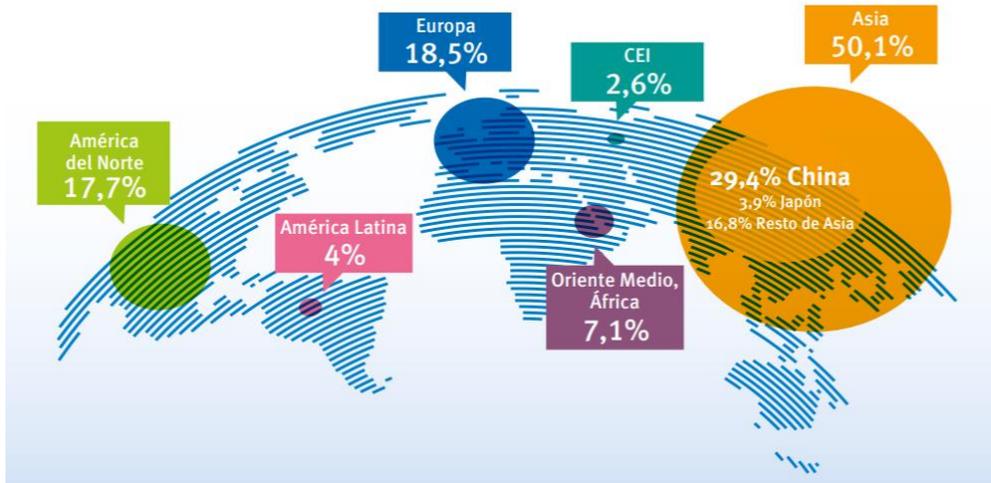


Figura 3. Gráfico de producción de plástico a nivel mundial (plasticseurope, 2018).

Los plásticos suelen ser material impermeable y resistente, lo que es una gran ventaja a la hora de utilizarlo, pero es un inconveniente preocupante de cara a su degradación en el medio ambiente (Krzan *et al.*, 2006, Gangadoo *et al.*, 2020).

La llegada de plásticos al medio marino puede darse por distintas rutas, puede ser a través del viento que lo transporta directamente al mar, por la desembocadura de aguas continentales ya contaminadas o por el vertido directo de aguas residuales. Pero existen actividades marítimas que directamente generan contaminación plástica, como la pesca o los deportes acuáticos (Laganà *et al.*, 2019).

El programa de las naciones unidas para el medio ambiente (PNUMA) establece que para 2050 habrá más peso en plástico que en peces en los océanos. El plástico ha llegado a todos rincones de la tierra, incluso a los lugares más alejados y vírgenes (Mendoza *et al.*, 2018).

En el medio ambiente, este material, incluso muchos de los llamados biodegradables, no se llega a degradar por completo, sino que va disminuyendo su tamaño hasta ser invisible para el ser humano, transformándose en microplástico (MP) o nanoplástico (NP), lo que nos lleva a creer que ha desaparecido y que no actúa como contaminante. Es a partir de los años 70 cuando se comienza a investigar acerca de la contaminación plástica y cuando se comienza a evidenciar la existencia de los microplásticos como contaminante (Krzan *et al.*, 2006).

Actualmente los microplásticos (MP) se han convertido en un contaminante común en sistemas terrestres, pero también en los acuáticos marinos y dulces. Se considera microplástico a una partícula o una fracción de plástico de entre 0,1 y 5 mm de diámetro, estas partículas pueden dividirse en primarias o secundarias, las primarias se generan siendo menores de 5mm para usos determinados y las segundas son resultado de la descomposición y fraccionamiento de plásticos de mayor tamaño debido a procesos biológicos, físicos y químicos. (Estahbanati y Fahrenfeld, 2016).

No se sabe con exactitud la cantidad de plástico presente en los ecosistemas acuáticos, debido a que gran parte es de tamaño microscópico, lo que dificulta la estimación sin un estudio más exhaustivo (Andrady, 2011). Algunos estudios estiman que en Estados Unidos diariamente entran unos $8 \cdot 10^{12}$ unidades de microplásticos a los ecosistemas acuáticos (Rochman *et al.*, 2015). Debido a la baja degradabilidad de los materiales plásticos de los que están formados los microplásticos, éstos persisten en el medio ambiente y se acumulan en él (Estahbanat y Fahrenfeld, 2016), se han llegado a detectar concentraciones de hasta 8654 unidades de MP/m³ en la superficie del mar (Hidalgo *et al.*, 2012).

La concentración de microplásticos en sistemas de agua dulce está menos estudiada, aunque hay estudios relacionados con la acumulación de microplásticos en lagos estuarios y ríos. Analizando el agua en influentes de EDAR (entradas a depuradoras) se ha encontrado una alta concentración de microplásticos (104 a 105 MP / m³), su incompleta eliminación en los procesos de tratamiento de las aguas residuales (entre 70 y el 100%) puede dar lugar a contaminación por microplásticos en el agua receptora, es decir, en aguas continentales o marinas en las que desembocan estas aguas contaminadas (Estahbanati y Fahrenfeld 2016).

Los efluentes de las EDAR han sido identificados como una de las fuentes de vertido de microplásticos a ambientes de agua dulce (Novo y Manaia., 2010), así se sabe que en zonas acuáticas cercanas a grande núcleos de población la cantidad de partículas microplásticas es mayor que es zonas alejadas a las mismas. Por ejemplo en EEUU, 280.947- 466.305 partículas/km² en zonas de densidades altas de población y 456- 6.541 partículas/km² en zonas más alejadas (Eriksen *et al.*, 2013).

Los microplásticos, algunos de los plásticos más frecuentes en contaminación marina son el polietileno, el poliestireno, tereftalato de polietileno, el poliuretano o el cloruro de polivinilo.

Según el estudio de (Virsek *et al.*, 2017) en el que se recogieron muestras de agua de mar en Eslovenia en 2014 y en 2015 en los mismos puntos de muestreo, la cantidad de microplásticos encontrados en las muestras fue cinco veces superior en el agua recogida en 2015, siendo el polietileno el más abundante en el agua en los dos años estudiados.

4. MICROPLÁSTICOS COMO VECTOR.

Al tener un tamaño tan reducido es muy fácil que los organismos los incorporen y por tanto que se vean afectados por la contaminación derivada de los mismos. Además, se ha demostrado que la contaminación por microplásticos afecta tanto a especies unicelulares, bacterias y hongos, como a especies más grandes organismos, como mamíferos y pájaros (Gangadoo *et al.*, 2020).

Los microplásticos (MP), debido a la superficie hidrofóbica, pueden absorber contaminantes, como metales pesados, contaminantes orgánicos persistentes y/o emergentes altamente tóxicos (Song *et al.*, 2020). Esto confiere a los MP la posibilidad de aumentar la capacidad de transporte y dispersión de estos contaminantes de composición no polar y débilmente polar por adsorción física y atrapamiento dentro de las matrices poliméricas, (Chen *et al.*, 2018). Según (Li *et al.*, 2018) existe adsorción de antibióticos por parte de los MP, siendo distinta según el tipo de plástico, el antibiótico, las condiciones de pH y la fuerza iónica que presenta el medio acuático en el que se encuentran interaccionando. Se vio que la adsorción es mayor en agua dulce que en agua salada, y que las fuerzas predominantes en la unión de antibióticos a MP son puente de hidrógeno, las fuerzas de Van Der Waals y la interacción electrostática. Además, los MP envejecidos y de menor tamaño tienen una mayor facilidad de absorción de antibióticos, lo que los convierte en portadores de antibióticos en medios acuáticos. Por lo tanto, los MP pueden actuar como reservorios de ARB y ARG (Jian *et al.*, 2019). Los MP actúan como vectores para la bioacumulación de contaminantes en los organismos ya sea por sus branquias o por ingestión, se ha probado que los contaminantes que han sido absorbidos por los MP

(antibióticos, otros químicos, metales...) pasan a los organismos y además, afectan a sus funciones fisiológicas (Browne *et al.*, 2013).

Así mismo, los microplásticos puede proporcionar hábitats relativamente estables para diferentes microorganismos, promoviendo el enriquecimiento de microorganismos y acelerar la formación de biopelículas pudiendo convertirse en vectores de microorganismos nocivos (Zhang *et al.*, 2020; Song *et al.*, 2020).

Las bacterias son organismos unicelulares, pero en la naturaleza suelen unirse formando comunidades multicelulares altamente estructuradas, llamadas biopelículas. Las bacterias se agrupan en biopelículas con el fin de tener más posibilidades de sobrevivir en ambientes hostiles (Flemming *et al.*, 2016).

Las bacterias de una biopelícula pueden ser de distintas especies, en este caso se ven características en esas bacterias que no se verían en caso de vivir de forma "individual", esto se conoce como heterogeneidad de la expresión génica. Es un fenómeno por el que las bacterias que forman parte de una comunidad adquieren un rol y finalmente se obtiene una mayor tolerancia a los antibióticos por parte de todas las bacterias que se encuentran en el biofilm (Hall y Mah, 2017).

Las células bacterianas que viven en las biopelículas están agrupadas a una alta densidad dentro de una matriz, debido a la secreción de una sustancia extracelular que está formada por biopolímeros (Abe *et al.*, 2020). En ambientes acuáticos, las biopelículas se encuentran en muchas superficies, como las rocosas, sistemas de tratamiento de agua o microplásticos (Michels *et al.*, 2018). Se cree que las biopelículas en ambientes acuáticos son puntos calientes para la transferencia horizontal de genes (HGT) de genes de resistencia a antibióticos (Abe *et al.*, 2020). La transferencia horizontal de genes (HGT), es la base para la difusión de los ARG entre bacterias (Aminov, 2011).

Angles, Marshall y Goodman (1993) demostraron que existe una mayor frecuencia de transferencia en biopelículas adheridas a perlas de vidrio, que en bacterias libres en el agua. En la misma línea de investigación, otros autores han demostrado una mayor frecuencia de transferencia de plásmidos en bacterias asociadas con microplásticos en comparación con los de vida libre o presente en agregados naturales (Arias-Andres *et al.* 2018).

Los microplásticos pueden actuar como un foco para la selección de patógenos con múltiples resistencias a los antibióticos (Novo *et al.*, 2010).

La conjugación es un mecanismo muy importante para la difusión de ARG en las biopelículas debido a que, como hemos explicado anteriormente, se produce un intercambio de ADN entre distintas especies de bacterias. La conjugación no suele darse entre las células que se encuentran “libres” y por tanto son móviles porque la transferencia requiere un contacto directo entre la célula donante y las células receptoras. Sin embargo, esta desventaja se supera en biopelículas, donde las células están unidas a una matriz, muy próximas entre sí y durante un tiempo prolongado. De hecho, muchos informes indican que las biopelículas favorecen el proceso de conjugación (Abe *et al.*, 2020).

Por lo tanto, se puede pensar que las biopelículas son los principales reservorios de genes resistentes a antibióticos para la proliferación de ARB en los sistemas acuáticos. Además, las bacterias que se liberan de las biopelículas pueden extenderse en los ambientes y llegar a ser un problema para la salud humana (Michels *et al.*, 2018; Caruso, 2019).

Dada la fácil propagación de MP por el medio acuático, y con ello de los contaminantes absorbidos y de las biopelículas que se asocian a estos ambientes, se han realizado varios estudios en los últimos años para saber si en estas biopelículas se favorece el desarrollo de ARB, lo que sería un gran peligro para la salud humana y los ecosistemas acuáticos (Moorea *et al.*, 2020).

Algunos autores como (Harrison *et al.*, 2014; De Tender *et al.*, 2015; Zettler *et al.*, 2013; McCormick *et al.*, 2014; Jian *et al.*, 2019) publicaron en sus estudios que las comunidades de bacterias que forman parte de las biopelículas son distintas a las que habitan en otros sustratos e incluso en el agua circundante. En 2019, se realizó un estudio con tres tipos de sustrato, dos naturales: roca y hoja, y microplástico. Las bacterias que crecen en la biopelícula microplástica son distintas a las que se encuentran en rocas y hojas. Por otro lado, la biopelícula del MP puede dispersarse a ambientes inaccesibles para sustratos naturales y además, transportar patógenos a lo largo de toda la masa de agua (Xiaojian *et al.*, 2019).

En el medio marino también se han recogido plásticos y se han analizado las comunidades bacterianas existentes con el fin de ver si existe mayor resistencia a antibióticos que en el agua dulce o en otros sustratos, y se han obtenido resultados claros en los que los ARG se encuentran presentes y en grandes cantidades, lo que refuerza la idea de MP como vectores de transmisión de ARB y ARG (Novo *et al*, 2010; Halling *et al.*, 1998; Martínez, 2009; Hirsch *et al*, 1999).

Las bacterias patógenas colonizan los microplásticos al igual que las no patógenas, en un estudio sobre una bacteria patógena en salmónidos (*Aeuromona Salmonicida*) realizado por (Virsek *et al.*, 2017) encontraron que esta bacteria colonizaba los microplásticos y formaba parte de las colonias que habitaban en los mismos. Esto nos indica que los MP sirven como vector de especies patógenas en medios acuáticos (Moorea *et al.*, 2020).

Un estudio investigó el enriquecimiento de ARB, especialmente bacterias resistentes a múltiples antibióticos (MARB), en la superficie de microplásticos en el sistema de maricultura, crecimiento de organismos acuáticos en secciones cerradas en el mar abierto (Zhang *et al.*, 2020).

Las muestras estudiadas fueron recogidas directamente de una empresa de maricultura, se determinó que el 75 % de las muestras de microplástico recolectados eran de tereftalato de polietileno (PET). La resistencia fue estudiada utilizando el método de crecimiento en placa utilizando 7 antibióticos pertenecientes a diferentes familias de antibióticos tetraciclinas (tetraciclina), sulfonamida (sulfafurazole), quinolonas (ciprofloxacina), cloramphenicol (chloramphenicol), β -lactamas (penicilina), aminoglicosidos (gentamicina) y macrolidos (eritromicina) y una mezcla de ellos para estudiar la multiresistencia. Los recuentos de ARB cultivable en muestras de microplásticos fueron 6.40×10^6 – 2.48×10^8 Unidades Formadoras de Colonias / g, que fueron 100–5000 veces más alto que los de las muestras de agua.

El mayor porcentaje de resistencia fue frente a los antibióticos penicilina, sulfafurazol, eritromicina y tetraciclina y sus mezclas. Los géneros predominantes de bacterias fueron *Vibrio*, *Muricauda* y *Ruegeria*. Estos autores concluyen que sobre los microplásticos se produce un enriquecimiento de ARB, especialmente de bacterias multiresistentes a distintos antibióticos y por lo tanto los MP son un vector para la propagación de la resistencia a los antibióticos.

En un estudio similar realizado sobre una planta de acuicultura con recirculación situada en la costa también en China, se detectaron microplásticos en muestras de agua recolectadas del biofiltro de un estanque, estanque de peces y estanque de reciclaje. Se encontraron abundancias que van de 58 a 72 piezas / m³ (Lu *et al.*, 2019). En este estudio se utilizó la técnica PCR para el estudio de la resistencia y se detectaron un total de 10 ARG en las muestras de agua. En muestras microplásticas se vieron abundancias totales en el rango de 3.24×10^5 - 7.83×10^5 copias / mL en agua y 1.59×10^9 - 1.83×10^9 copias / g en microplásticos.

Los genes de resistencia a la sulfonamida fueron los ARG dominantes del agua y microplásticos. La diversidad de las comunidades microbianas en los microplásticos fue mayor que la de agua. Los autores concluyen que los microplásticos sirven como una importante reserva de ARG en sistemas de acuicultura.

Los plásticos se extienden por todo el planeta, llegando incluso a entornos considerados como vírgenes, como puede ser el continente antártico, donde se ha estimado que los niveles de plástico son 5 veces más grandes de lo esperado (Laganà *et al.*, 2019). Estos autores estudiaron la presencia de bacterias con resistencia a los antibióticos sobre muestras de polietileno, encontrando la aparición de múltiples ARG contra la cefuroxima y la cefazolina, dos antibióticos que pertenecen a las cefalosporinas, contra la cinoxacina que pertenece a las quinolonas, así como a contra ampicilina, amoxicilina + ácido clavulánico, carbenicilina y mezlocilina que pertenecen a betalactámicos. Los autores concluyen que la detección de múltiples ARB refuerza la idea de que los plásticos actúan como depósitos potenciales de genes de resistencia.

Sin embargo, hay otros autores que no ven este efecto de los MP. En un estudio reciente (Song *et al.*, 2020) se centró en la investigación de la presencia de la bacteria *E. Coli* con resistencia a antibióticos β -lactámicos de amplio espectro, como cefalosporina (ESBL), sobre materiales de distinta naturaleza como materiales sintéticos de polietileno de alta densidad (HDPE) en neumáticos de coche desgastados y materia natural, para ver el efecto del material que actúa como soporte. El estudio fue realizado incubando las partículas 33 días en múltiples sitios a lo largo de un río hasta su desembocadura para estudiar el efecto del gradiente de salinidad.

Los resultados mostraron que las poblaciones generales de *E. coli* estaban presentes en las superficies de partículas de madera en todas las zonas, pero ninguno presentó bacterias multiresistentes, mientras que ni sobre las partículas HDPE, ni las partículas de neumático se encontraron presencia de *E. coli*. Por el contrario, si se encontró la presencia de la bacteria *E. coli* con resistencia a varios antibióticos, multiresistencia, en las aguas circundantes a la zona de incubación, de las cuales el 64% presentaba resistencias contra otros 3 grupos de antibióticos (fluoroquinolonas, sulmametoxazol, aminoglucósidos).

5. CONCLUSIONES.

La principal conclusión que podemos sacar de esta revisión bibliográfica es que las interacciones entre comunidades bacterianas y microplásticos se dan cada vez más, favoreciendo los MP la transferencia de ARG entre biopelículas a lo largo de todo el planeta. Es un problema medioambiental y humano en crecimiento.

Los plásticos cada vez ocupan mayor espacio en las masas de agua, tanto los que vemos como los que no (microplásticos y nanoplásticos) y a día de hoy no hay un método claro para su eliminación, por lo que permanecen en el agua y cada vez aumenta más su número. Prácticamente la totalidad de las masas de agua del planeta contienen plástico en alguna de sus fases de degradación, lo que confirma su gran capacidad de dispersión.

Otro de los problemas que nos encontramos en el medio acuático es la contaminación por antibióticos, sustancias selectivas desarrolladas para la eliminación de bacterias patógenas en los seres vivos. Al encontrarse en el medio en grandes cantidades favorecen el desarrollo y la posterior transmisión de resistencia por parte de las bacterias a lo antibióticos, provocando que pierdan su efecto bactericida en caso de infección en seres vivos.

Ambos contaminantes suponen un problema para el medioambiente, pero además, al interaccionar entre ellos provocan que sea más sencilla la transmisión de ARG entre bacterias y que puedan extenderse estos genes resistentes de manera más rápida y eficaz a lo largo de todo el agua del planeta. Esta interacción es un tema muy reciente y por tanto no hay muchos estudios que profundicen en ello, pero es algo

que tiene que avanzar rápido debido a que el desconocimiento y la falta de medidas que ayuden a erradicar, o por lo menos atenuar, el problema puede desembocar en un problema de salud grave a nivel mundial. Parece que las infecciones bacterianas están controladas, pero existe un gran número de taxones de bacterias en los que se ha encontrado resistencia o multiresistencia a estos fármacos bactericidas, lo que puede provocar que al recetar un antibiótico a un paciente éste carezca de efecto y por tanto la infección no se pueda erradicar y cause problemas importantes en el paciente.

Es necesario que se realicen estudios más detallados para poder tener más información acerca de la interacción entre estos dos contaminantes y así intentar encontrar una solución o alguna posible vía de atenuación en la dispersión. Lo esencial es llevar un control de los antibióticos, recetándolos únicamente cuando sea necesario y en dosis adecuadas. Por otro lado, es necesario que se disminuya el consumo de plásticos para intentar evitar que su degradación se convierta en una contaminación por microplásticos de los medios acuáticos. Si conseguimos disminuir la presencia de ambos contaminantes en el agua, su interacción y efectos nocivos serán menores. Aunque se controle el foco, es necesario saber más acerca de como poder eliminar ARG, ARB y la interacción que se crea con los MP, para que en un futuro no muy lejano podamos tratar las aguas de manera que este problema, ahora creciente, no llegue a convertirse en un problema de salud mundial irreversible.

6. BIBLIOGRAFIA

Abe, K., Nomura, N., Suzuki, S. (2020). Biofilms: hot spots of horizontal gene transfer (HGT) in aquatic environments, with a focus on a new HGT mechanism. *FEMS Microbiology Ecology*, 96(5), fiae031.

Acevedo, R., Severiche, A., Jaimes, J., (2015). Bacterias resistentes a antibióticos en ecosistemas acuáticos. *Producción + Limpia*. Vol.10, No.2 – 160-172.

Acevedo, R., Severiche, C. (2013). Identificación de bacterias resistentes a di-bromo-mercurio aisladas de sedimentos en playas de Cartagena de Indias, Caribe colombiano. *Rev. Avan. Inv. Ing.* 10 (2): 73-79.

Aminov, R. I. (2011). Horizontal gene exchange in environmental microbiota. *Frontiers in microbiology*, 2, 158.

Andrady, A.L., (2011). Microplastics in the marine environment. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 1596-1605.

Angles, M. L., Marshall, K. C., Goodman, A. E. (1993). Plasmid transfer between marine bacteria in the aqueous phase and biofilms in reactor microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59(3), 843-850.

Arias-Andres, M., Klümper, U., Rojas-Jimenez, K., Grossart, H. P. (2018). Microplastic pollution increases gene exchange in aquatic ecosystems. *Environmental Pollution*, 237, 253-261.

Bennet, P. (2008) "Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria". *British Journal of Pharmacology* 153, S347–S357

Betancor, L., Gadea, M. P., Flores, K. (2008). "Genética bacteriana. Instituto de Higiene, Facultad de Medicina (UDELAR)". *Temas de Bacteriología y Virología Médica. 3ra Ed. Montevideo: Oficina del Libro FEFMUR*, 65-90.

Browne, M.A., Niven, S.J., Galloway, T., Rowland, S., Thompson, R. (2013). Microplastics moves pollutants and additives to worms, reducing functions linked to health and biodiversity. *Current biology*, volume 23, issue 23, pages 2388-2392.

Caruso, G. (2019). Microplastics as vectors of contaminants. *Marine pollution bulletin*, 146, 921-924.

Chen, C.S., Le, C., Chiu, M.H., Chin, W.C. (2018). The impact of nanoplastics on marine dissolved organic matter assembly. *Sci. Total Environ.* 634, 316–320.

Collier, J. y Acar, J. F. (2009). “Antibiotic resistance: an ecological perspective on an old problem”. *American Academy of Microbiology*.

Cundliffe, E. (1989). “How antibiotic-producing organisms avoid suicide”. *Annual Reviews in Microbiology*, 43(1), 207-233.

D'Acosta, V.M., McGrann, K.M., Hughes, D.W., Wright, G.D. (2006). Sampling the antibiotic resistome. *Science* 311, pp. 374-377.

Davies, J. (1995). “Vicious circles: looking back on resistance plasmids”. *Genetics* 139:1465–1468.

Davies, J. y Davies, D. (2010). “Origins and evolution of antibiotic resistance”. *Microbiology and molecular biology reviews*, 74(3), 417-433.

De Tender, C., Devriese, L., Haegeman, A., Maes, S., Ruttink, T., Dawyndt, P., (2015). Bacterial community profiling of plastic litter in the Belgian part of the North Sea. *Environ. Sci. Technol.* 2015, 49, 16, 9629–9638.

Eriksen, M., Mason, S., Wilson, S., Box, C., Zellers, A., Edwards, W. (2013). Microplastic pollution in the surface waters of the Laurentian Great Lakes. *Mar. Pollut. Bull.*; 77:177-82.

Estahbanati, S., Fahrenfeld, N.L. (2016). Influence of wastewater treatment plant discharges on microplastic concentrations in surface water. *Chemosphere*, 162, 277-284.

Esteva, L., Ibargüen, E., Romero, J., 2011. Un modelo matemático sobre bacterias sensibles y resistentes a antibióticos. *Matemáticas: Enseñanza Universitaria*, vol. XIX, núm. 2, pp. 55-73 Escuela Regional de Matemáticas Cali, Colombia.

Flemming, H. C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S. A., Kjelleberg, S. (2016). Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature Reviews. Microbiology*, 14(9), 563.

Gangadoo, S., Owen, S., Rajapaksha, P., Plastaid, K., Cheeseman, S., Haddara, H., Truong, V.K., Ngo, S.T., Vu V. Cozzolino, D. Elbourne, A., Crawford, R., Latham, K., Chapman, J., Elbourne, A. (2020). Nano-plastics and their analytical characterisation and fate in the marine environment: From Source to Sea. *Science of The Total Environment*, 138792.

Gatica, J., Kaplan, E. (2015). Antibiotic resistance elements in wastewater treatment plants: Scope and potential impacts. *The handbook of environmental chemistry*, vol 44. Springer, Cham.

Graham, D., Olivares, S., Knapp, C., Lima, L., Werner, D., Bowen, E. (2011). Antibiotic resistance gene abundances associated with waste discharges to the Almendares river near Havana, Cuba. *Environ. Sci. Technol.* 45: 418-424.

Hall, C. W., Mah, T. F. (2017). Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria. *FEMS microbiology reviews*, 41(3), 276-301.

Halling-Sorensen, B., Nors, S., Lanzky, P.F., Ingerslev, F., Holten, H.C., Jorgensen, S.E. (1998). Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment. *A review chemosphere*, 36, pp. 357-393.

Harrison, J., Schratzberger, M., Sapp, M. (2014). Osborn rapid bacterial colonization of low-density polyethylene in coastal sediment microcosms. *BMC Microbiol.*, 14 (1), p.232.

Herrera Ulibarri, A., Martínez Sánchez, I., Rapp Cabrera, J., Raymond, E., Gómez, M. (2019). Microplastics: the invisible threat. *Frontiers in Marine Science*.

Hidalgo-Ruz, V., Gutow, L., Thompson, R.C., Thiel, M., (2012). Microplastics in the marine environment: a review of the methods used for identification and quantification. *Environ. Sci. Technol.* 46, 3060e3075.

Hirsch, R., Ternes, T., Haberer, K., Kratz, K.L. (1999). Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *Sci. Total Environ.*, 225, pp. 109-118.

Hopwood, D. A. (2007). "How do antibiotic-producing bacteria ensure their self-resistance before antibiotic biosynthesis incapacitates them?". *Molecular Microbiology* 63:937–940.

Imran, MD., Rajan, K., Mohan, M., (2019). Co-selection of multi-antibiotic resistance in bacterial pathogens in metal and microplastics contaminated environments: An emerging health treat. Department of biotechnology Goa University Taleigao Plateau, Gao, 403206, India. *Chemosphere* 215 (2019) 846-457.

Jayaraman, R. (2009). "Antibiotic resistance: an overview of mechanisms and a paradigm shift". *Curr Sci* 96:1475–1484.

Jian, L., Yuxuan, Z., Yongming, L. (2019). Effects of microplastics on distribution of antibiotic resistance genes in recirculating aquaculture system. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Volume 184, 109631.

Krzan, A., Hemjinda, S., Miertus, S., Corti, A., Chiellini, E. (2006). Standardization and certification in the area of environmentally degradable plastics. *Polymer degradation and stability*, 91(12), 2819-2833.

Kümmerer, K. (2009). "Antibiotics in the aquatic environment. A review part II". *Chemosphere*, 75(4), 435-441.

Kunkalekar, R.K., Prabhu, M.S., Naik, M.M., Salker, A.V. (2014). Silver-doped manganese dioxide and trioxide nanoparticles inhibit both Gram positive and Gram-negative pathogenic bacteria. *Colloids Surfaces B. Biointerfaces* 113, 429e434.

Laganà, P., Carusob, G., Corsic I., Bergamic, E., Venutid, V., Majolinod, D., La Ferlab, R., Azzarob, M., Cappellob, S. (2019). Do plastics serve as a possible vector for the spread of antibiotic resistance? First insights from bacteria associated to a polystyrene piece from King George Island (Antarctica). *Volumen 222, Issue 1, Pages 89-100.*

Lambert, S., Wagner M. (2018). Microplastics are contaminants of emerging concern in freshwater environments: an overview. *The handbook of environmental chemistry, vol 58. Springer, Cham.*

Li, J., Zhang, K., Zhang, H., (2018). Adsorption of antibiotics on microplastics. *Environ. Pollut.* 237, 460-467.

Lu, J., Zhang, Y., Wu, J., Luo, Y. (2019). Effects of microplastics on distribution of antibiotic resistance genes in recirculating aquaculture system. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 184, 109631.

Martínez, A., Cruz, M., Veranes, O., Carballo, M. (2010). Antibiotic and metals resistance in bacteria isolate from Almendares River. *Rev. Cenic.* 41: 1-10.

Martínez, J. (2009). Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. *Env. Pol.* 157: 2893-2902.

McCormick, A., Hoellein, T., Manson, S., Schlupe, J., Kelly, J. (2014). Microplastic is an abundant and distinct microbial habitat in an urban river. *Environ. Sci. Technol.* 2014, 48, 20, 11863–11871.

Mendoza, L.M.R., Karapanagioti, H., Álvarez, N.R. (2018). Micro(nanoplastics) in the marine environment: current knowledge and gaps. *Curr. Opin. Environ. Sci. Health* 1, 47-51.

Michels, J., Stippkugel, A., Lenz, M., Wirtz, K., Engel, A. (2018). Rapid aggregation of biofilm-covered microplastics with marine biogenic particles. *Proceedings of The Royal Society B*, 285(1885), 20181203.

Moorea, R., Cherie, B., Moore, J., (2020). Antimicrobial resistance (AMR) and marine plastics: Can food packaging litter act as a dispersal mechanism for AMR in oceanic environments?

Moreno, C., González, R., Beltrán, E. (2009). Mecanismos de resistencia antimicrobiana en patógenos respiratorios. *Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello* 2009; 69:185-192.

Novo A. y Manaia C. (2010) "Factors influencing antibiotic resistance burden in municipal wastewater treatment plants". *Environmental Biotechnology* 87:1157–1166.

PlasticsEurope, (2018). Análisis de los datos sobre la producción, la demanda y los residuos de plásticos en Europa.

Prabhu, M., Mutnuri, S., Dubey, S.K., Naik, M.M. (2014). One-pot rapid synthesis of face-centered cubicsilver nanoparticles using fermented cow urine,a nano- weapon against fungal and bacterial pathogens. *J. Bionanosci.* 8, 1e9.

Pruden, A., Larsson, D. J., Amézquita, A., Collignon, P., Brandt, K. K., Graham, D. W., Lazorchak, J.M., Suzuki, S., Silley, P., Snape, J.R., Topp, E., Zhang, Zhu, Y.G. (2013). "Management options for reducing the release of antibiotics and antibiotic resistance genes to the environment". *Environmental health perspectives*, 121(8), 878.

Rizzo, L., Manaia, C., Merlin, C., Schwartz, T., Dagot, C., Ploy, M. C, Michael, I. y Fatta-Kassinos,D. (2013). "Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteriaand genes spread into the environment: a review". *Science of the total environment*, 447, 345-360.

Rochman, C.M., Kross, S.M., Armstrong, J.B., Bogan, M.T., Darling, E.S., Green, S.J., Smyth, A.R., Veríssimo, D. (2015). Scientific evidence supports a ban on microbeads. *Environ. Sci. Technol.* 49, 10759e10761.

Sánchez, M., Gutiérrez, N., Muños, R. (2012). Resistencia bacteriana a los antibióticos: mecanismos de transferencia. *Revista Spei Domus*, volumen 8, número 17.

Song, J., Jongmans-Hochschulz, E., Mauder, N., Imirzalioglu, C., Wichels, A., Gerdt, G. (2020). The travelling particles: Investigating microplastics as possible transport vectors for multidrug resistant *E. coli* in the Weser estuary (Germany). *Science of the total Environment*, 137603.

Sosa A. (2006). The threat of antibiotic resistant bacteria and the development of new antibiotics. In: Amabile-Cuevas, C.F. (Ed.), *Antimicrobial Resistance in Bacteria*. Wymondham, Norfolk NR180JA, UK, pp. 7e24.

Torres-Manrique, C. (2012). "La resistencia bacteriana a los antibióticos, siete décadas después de Fleming". Academia de Farmacia Reino de Aragón (Zaragoza).

Venegas, M., Correa, N., Jiménez, F. (2009). Resistencia a antibióticos de bacterias aisladas de biopelículas en una planta de alimentos. Bacterias resistentes a antibióticos en ecosistemas acuáticos. *Rev. MVZ.* 14: 1677-1683.

Virsek, M.K., Lovsin, M.N., Koren, S., Krzan, A., Peterlin, M., (2017). Microplastics as a vector for the transport of the bacterial fish pathogen species *Aeromonas salmonicida*. *Mar. Pollut. Bull.* 125, 301-309.

Wales, A.D.; Davies, R.H. (2015). Co-Selection of resistance to antibiotics, biocides and heavy metals, and its relevance to foodborne pathogens. *Antibiotics* 2015, 4, 567-604.

Xiaojian, W., Jie, P., Meng, L., Yao L., Mark, B., Yingying, W. (2019). Selective enrichment of bacterial pathogens by microplastic biofilm. *Water research*, volume 165, 114979.

Zettler, E., Mincer, L., (2013). Life in the “platisphere”: microbial communities on plastic marine debris. *Environ. Sci. Technol.*, 47 (2013), pp. 7137-7146.

Zhang, Y., Lu, J., Wu, J., Wang, J., Luo, Y. (2020). Potential risks of microplastics combined with superbugs: Enrichment of antibiotic resistant bacteria on the surface of microplastics in mariculture system. *Ecotoxicology and environmental safety*, 187, 109852.