

Efecto de la Carbamazepina en la transferencia horizontal de genes de resistencia a los antibióticos mediada por plásmidos conjugativos

M. García-Castrillo¹, I. Alkorta-Calvo¹, C. Garbisu-Crespo²

(1) Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad del País Vasco, P. O. Box 644, 48080, Bilbao, Bizkaia

(2) Departamento de Conservación de Recursos Naturales, NEIKER-Instituto Vasco de Desarrollo e Investigación Agraria, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Derio

INTRODUCCIÓN

La resistencia a los antibióticos es una de las principales amenazas para la salud mundial, atribuida a la presión selectiva causada por los antibióticos acumulados en el medio ambiente. El aumento en los últimos años de la propagación de genes de resistencia se atribuye en gran medida a la transferencia horizontal de genes. La carbamazepina (CBZ) es uno de los productos farmacéuticos no antibióticos más altos en ambientes acuáticos.

OBJETIVOS

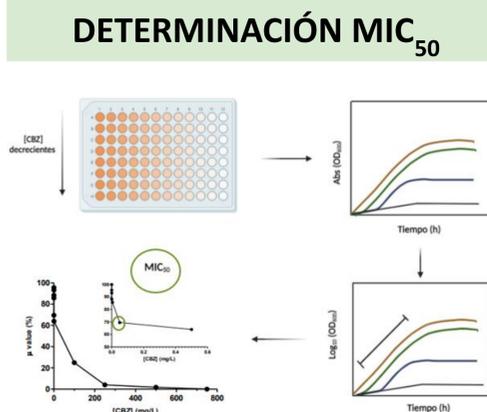
1. Calcular la **concentración sub-inhibitoria de CBZ** para cada bacteria donadora que contiene un plásmido conjugativo.
2. Estudiar el efecto de la CBZ en la **frecuencia de transferencia horizontal de genes de resistencia a los antibióticos** mediada por los plásmidos R388, RP4, pOX38Km, R1, pKM101 y R6K.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 6 cepas donadoras de E.coli con diferentes plásmidos conjugativos (R388, RP4, pOX38Km, R1, pKM101 y R6K) y una cepa receptora de E. coli con el plásmido conjugativo HMS174.

1. Se calculó la concentración de CBZ que inhibe el 50% del crecimiento bacteriano.
2. Se estudió el efecto de la MIC₅₀ de CBZ sobre la conjugación mediante dos ensayos diferentes; la conjugación clásica y la conjugación HTP.

Fig 1. Esquema del proceso de determinación de la MIC₅₀ para cada bacteria donadora.



CONJUGACIÓN CLÁSICA

CONJUGACIÓN HTP

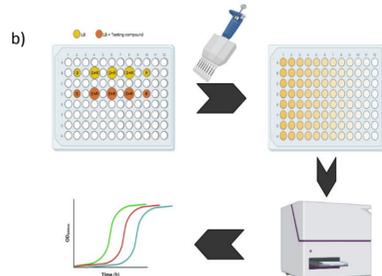
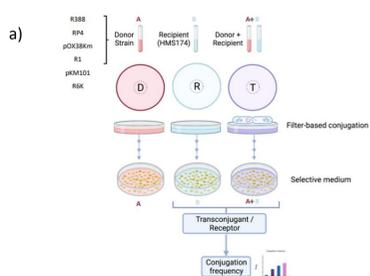


Fig 2. a) Esquema del ensayo de conjugación clásica realizado para comprobar las frecuencias de conjugación de los plásmidos conjugativos expuestos a 0,5 mg/L de CBZ. El color rojo indica el medio selectivo del donador. El color azul indica el medio selectivo receptor. El color violeta indica el medio selectivo transconjugante (Rey, 2019). b) Esquema del ensayo de conjugación HTP realizado para comprobar las frecuencias de conjugación de los plásmidos conjugativos expuestos a 0,5 mg/L de CBZ.

RESULTADOS

DETERMINACIÓN MIC₅₀

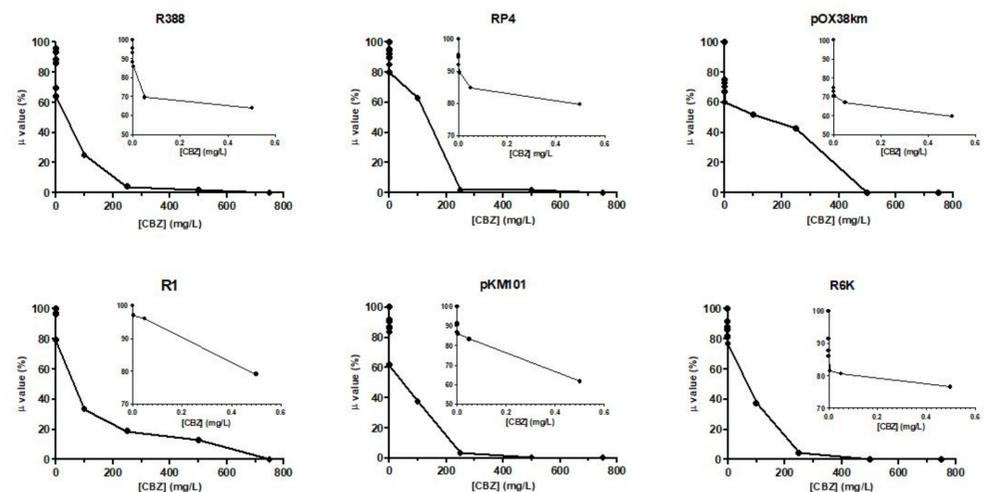


Fig 3. Representación gráfica de la tasa de crecimiento (valor μ (%)) de las bacterias donadoras portadoras de los plásmidos conjugativos R388, RP4, pOX38Km, pKM101 y R6K frente a las diferentes concentraciones de CBZ utilizadas.

CONJUGACIÓN CLÁSICA CBZ 0,5 mg/L

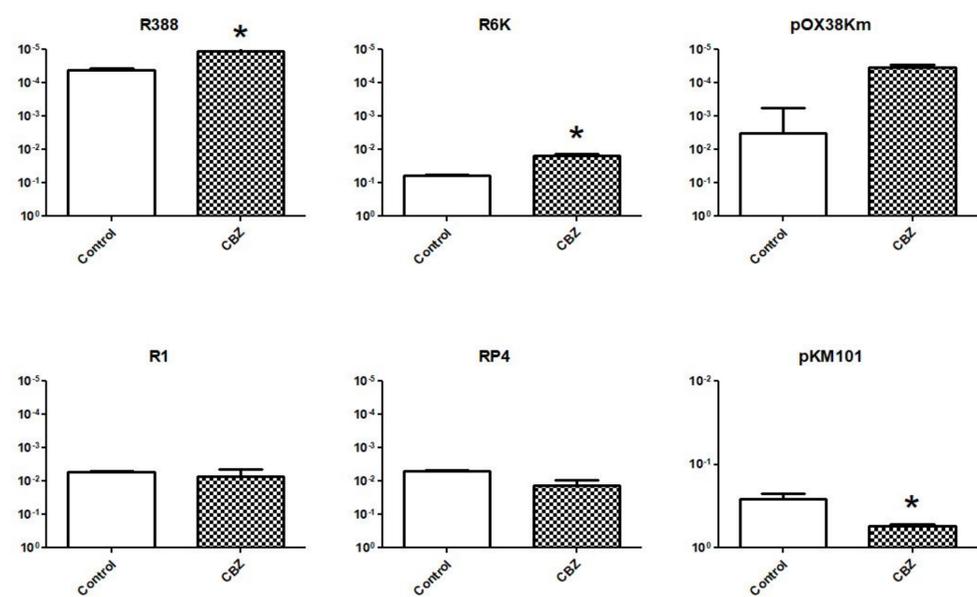


Fig 4. Efecto de 0,5 mg/L de CBZ en las frecuencias de conjugación de los seis plásmidos conjugativos; R388, RP4, pOX38Km, R1, pKM101 y R6K. *Diferencias estadísticamente significativas entre los grupos expuestos a la CBZ y los grupos control ($p < 0,05$).

CONJUGACIÓN HTP CBZ 0,5 mg/L

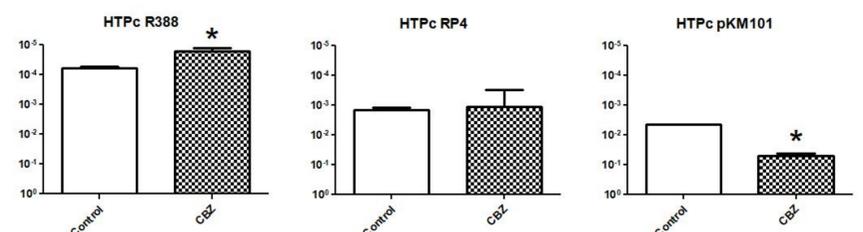


Fig 5. Efecto de 0,5 mg/L de CBZ en las frecuencias de conjugación de los plásmidos conjugativos R388, RP4 y pKM101. *Diferencias estadísticamente significativas entre los grupos expuestos y los grupos control ($p < 0,05$).

CONCLUSIONES

- a. La carbamazepina aumenta la frecuencia de transferencia del plásmido conjugativo pKM101.
- b. La carbamazepina disminuye la frecuencia de transferencia de los plásmidos conjugativos R388 y R6K.