

Evaluación de la capacidad de formar biofilm de micobacterias ambientales aisladas de agua de natatorios públicos y de agua de lluvia de la ciudad de General Pico

Oriani, D.S.; Tortone, C.A.; Staskevich, A.S.; Gino, L.M.; Oriani, A.S.; Zumárraga, M.; Nava, A.; Marfil, J.; Gagino, M.

Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLPam. General Pico, La Pampa.

La persistencia de micobacterias ambientales (MA) en los hábitats modificados por el hombre, entre los cuales se encuentran los natatorios de uso recreacional y/o terapéuticos se debe a su oligotrofia, diversidad nutricional, resistencia a los desinfectantes y fundamentalmente a la formación de biofilm. Estos factores actuarían como agentes selectivos, favoreciendo la proliferación y dominio final de las MA en estos hábitats respecto a otros microorganismos presentes en el agua. Este incremento de micobacterias constituye una potencial fuente de infección principalmente para los individuos inmunocomprometidos. Es sabido que las bacterias se hallan en la naturaleza en dos formas o estados: creciendo en biofilms (99%) y en forma planctónica o de libre flotación (1%). Es clara la ventaja que significa para las micobacterias, ya sean patógenas o ambientales, la capacidad para colonizar superficies (animadas o inanimadas) mediante la formación de biofilm, debido a que éste les brinda mayor disponibilidad de nutrientes y protección contra factores ambientales naturales y artificiales. Teniendo en cuenta este concepto se formuló la 2ª hipótesis del proyecto que tiene como objetivo: Evaluar la capacidad de formar biofilm in vitro de las cepas de MA aisladas de distintas fuentes de agua. Para valorar la capacidad de formar biofilm se sembraron inóculos estandarizados de las MA en policubetas estériles de PVC de 96 pocillos (BectonDickinson). Se incubaron a temperatura ambiente durante 30 minutos. Luego se adicionó el medio de cultivo Middlebrook 7H9 (MB) con glicerol. Las policubetas se taparon y se incubaron a 30 °C por 20 días. Para medir la formación del

biofilm, los pocillos se lavaron con agua estéril, se tiñeron con cristal violeta al 1% y se incubaron 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se lavaron con agua y se secaron sobre papel secante. El colorante incorporado al biofilm se resuspendió en etanol:acetona (70:30). La cuantificación se realizó midiendo densidad óptica en un lector de microplacas (Kayto RT-2100C) a 630 nm. Se destinaron pocillos con el medio de cultivo MB con glicerol sin suspensión bacteriana como control negativo. Se utilizó a *Mycobacterium smegmatis* (cepa patrón) como control positivo. Los resultados mostraron que tanto los aislamientos de MA en agua de natatorios (9 cepas ensayadas de 16 aislamientos totales) como los correspondientes al agua de lluvia (4 cepas ensayadas de 7 aislamientos) mostraron capacidad para desarrollar biofilm in vitro. Las MA de agua de natatorio: *Mycobacterium gordonae*, *Mycobacterium houstonense*, *Mycobacterium fortuitum* y *Mycobacterium mucogenicum* (pertenecientes a los clados *M. gordonae*, *M. fortuitum* y *M. mucogenicum*, respectivamente) formaron biofilm mostrando consistencia débil a moderada (rango de absorbancias: 0,035 - 0,556). El biofilm formado por las MA ensayadas del agua de lluvia: *Mycobacterium frederikbergense* y *Mycobacterium holsaticum* (pertenecientes a los clados *M. neoaurum* y *M. komossense*) y dos cepas no tipificadas, varió desde consistencia débil a moderada-fuerte (rango de absorbancias: 0,160 - 0,738). Los resultados obtenidos hasta la fecha guían a concluir que la persistencia de las MA en los natatorios desinfectados con altas concentraciones de cloro podría asociarse a la capacidad de las mismas para formar biofilm.