

## IMPACTO DEL PH ATMÓSFERA, TIEMPO DE INCUBACIÓN SOBRE BIOPELICULAS IN VITRO DE LIMOSILACTOBACILLUS REUTERI Y DE LACTICASEIBACILLUS RHAMNOSUS

### AUTORES:

Alicia Farinati<sup>1,2</sup>; David Andrés<sup>1,2</sup>; Candelaria Vidal y Vedia<sup>1,2</sup>

1- Instituto de Investigación en Medicina y Ciencias de la Salud (IIMCS) Facultad de Medicina USAL; 2-Cátedra Extracurricular de Biopelículas

<https://doi.org/10.55634/3.2.1>

La participación del microbioma en la evolución de procesos infecciosos y no infecciosos crónicos ha sido descrita por numerosos autores.

Una de las formas de modularlo es mediante el uso de probióticos (PB). Es importante que estos PB tengan la capacidad de formar biopelícula (BP) en diferentes mucosas del organismo.

Los microorganismos que se usan con mayor frecuencia como probióticos son *Lactobacillus* spp y microorganismos relacionados.

Los lactobacilos son bacilos grampositivos estrictamente aerotolerantes o anaerobios que forman parte de la microbiota gastrointestinal y genitourinaria humanas.

Hay estudios que las propiedades probióticas están muy ligadas a la especie y a la cepa<sup>1</sup>.

Existen muchos probióticos con probada eficiencia en el tracto gastrointestinal pero no ocurre lo mismo con los probióticos a nivel urogenital.

Además de las características que se enumeran siempre como son la producción de agua oxigenada, de ácido láctico, actividad hemolítica, presencia de genes de resistencia capaces de ser transferidos<sup>2,3,4</sup> es necesario establecer características en relación al habitat como la tolerancia a diferentes pH, presencia de oxígeno y capacidad de formar biopelículas (BP) que aseguren su persistencia en el tiempo.

Hay que tener en cuenta que estos parámetros son bien diferentes a nivel intestinal vs el vaginal.

Por lo tanto no se puede asumir a priori que los probióticos utilizados para modular la microbiota de una mucosa sean los mismos para hacerlo en otra mucosa diferente.

### OBJETIVO:

Analizar el impacto del pH, atmósfera, tiempo de incubación sobre biopelículas (BP) de *Limosilactobacillus reuteri* M0733(LRE) y de *Lacticaseibacillus rhamnosus* 104410(LRH).

### MATERIALES Y MÉTODOS:

**Cepas:** LREyLRH.

**Medios de cultivo.** Se emplearon dos medios de cultivo (caldo y agar Man Rogosa Sharpe -CMRS/AMRS- caldo y agar jugo de tomate-“made in house” CJT/AJT-).

**Biopelículas:** Se emplearon los dos medios de cultivo líquidos y sólidos. Fueron desarrolladas a partir de ambas

cepas sobre dispositivos de vidrio (DV) que se introdujeron en 6 CMRS y en 6 CJT. Se incubaron a 36.5°C en aerobiosis y anaerobiosis durante 15 días.

**Lectura de BP:** cada DV se extrajo a las 24, 48, 72, 96 hs y a los 15 días, fueron coloreados con cristal violeta al 0.5%. En cada lectura hubo un testigo sin DV.

Se observaron con microscopio óptico (1000x) y se interpretaron de acuerdo a un puntaje previamentes establecido por nosotros (0, ausencia de BP, hasta 5, BP completa).<sup>5</sup>

A partir de los caldos donde se desarrollaron las BP se efectuaron subcultivos en los medios sólidos para comprobar la pureza de los aislados

## RESULTADOS:

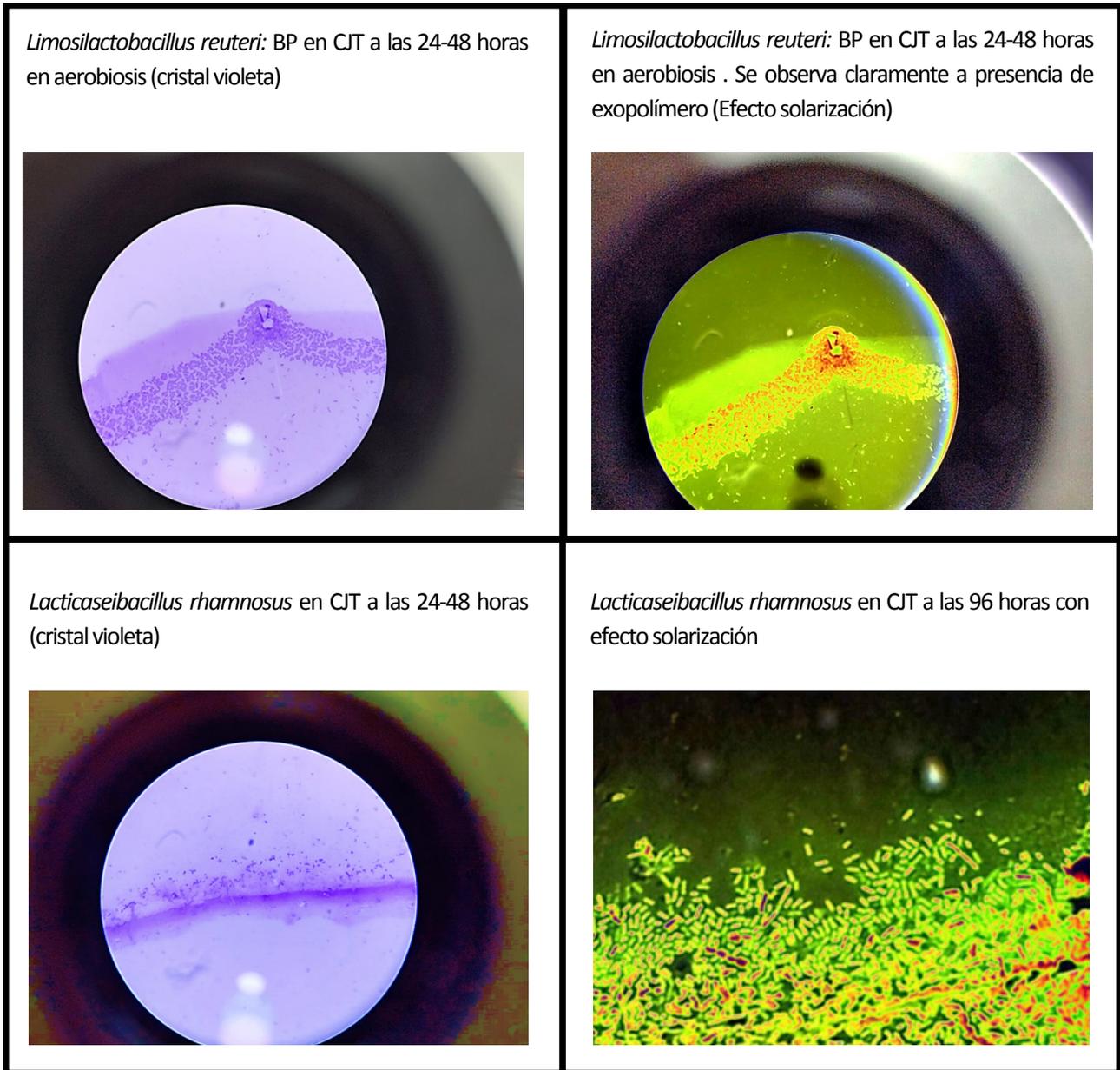
Ambas cepas formaron BP en los medios estudiados a pH 5.5 y a pH 8.0, en aero y anaerobiosis, como se observa en las figuras 1, 2, 3 y 4

Se registró descenso del pH a los 7 días hasta un pH de 2.9 y 2.8 en aero y anaerobiosis respectivamente, que se mantuvo hasta los 15 días.

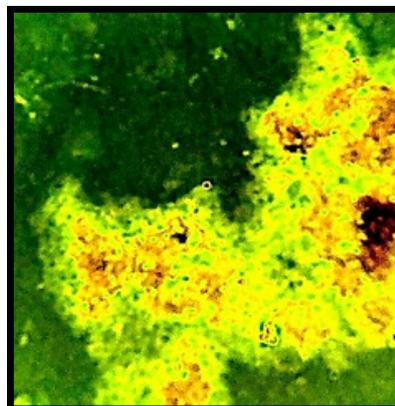
Se observó mayor descenso en CJT y en las primeras 24 horas en ambos medios. Las BP más vigorosas se observaron a las 72-96 horas. No hubo variación con respecto al pH ya que ambas cepas formaron BP a pH 6.5 y 8.0. En ningún caso hubo contaminación. Hubo buena producción de exopolímero, particularmente en la BP de L.reuteri que se evidenció con la utilización de filtros de solarización (Figura 5).

## CONCLUSIONES:

Si bien este es un trabajo preliminar destacamos que L.reuteri y L.rhamnosus parecen ser aptas como probióticos para la modulación de la microbiota intestinal y vaginal, por su capacidad de formar BP a diferentes pH y atmósferas.



**Figuras 1, 2, 3 y 4.** BP de *L.reuteri* y *L.rhamnosus* en CJT coloreadas con cristal violeta y con efecto de solarización.



**Figura 5.** Exopolímero en una BP de *L.reuteri* a las 96 horas. La flecha indica el exopolímero