

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICOBACTERIAS AMBIENTALES EN AGUA DE RED. ESTUDIO PRELIMINAR

Yesica Huerta, Alejandra Oriani y Mónica Baldini

Dpto. de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur. San Juan 670
Bahía Blanca. yesicahuerta@yahoo.com.ar

INTRODUCCIÓN

El grupo de las micobacterias es monogénico, todas corresponden al género *Mycobacterium*, y muchas de las especies son agentes etiológicos de enfermedades humanas muy importantes como la tuberculosis y la lepra (miembros del complejo *M. tuberculosis* y *M. leprae*) que, según datos de la OMS, constituyen en la actualidad uno de los problemas sanitarios de mayor gravedad a nivel mundial, a pesar de los esfuerzos realizados para su control. Además, numerosas especies de micobacterias ambientales (MA), también llamadas “micobacterias no tuberculosas” o “micobacterias atípicas”, han tomado mayor protagonismo en los últimos tiempos como patógenos emergentes, por su implicancia creciente en infecciones oportunistas del hombre y los animales, principalmente con el aumento de las infecciones por HIV (Murray *et al.*, 2003). Sus necesidades nutritivas sencillas, su pared celular muy gruesa y de alto contenido lipídico, su capacidad de formar biofilms y, en algunos casos de vivir como endosimbiontes de ciertos protozoos; son características que les confieren propiedades que favorecen su supervivencia en varios biotopos naturales por períodos prolongados de tiempo. También está demostrado que muchas especies sobreviven a los procesos de clorinación aplicados a las aguas de bebida (Barreira y Sequeira, 2003), lo cual hace del agua de red uno de sus reservorios principales, a través del cual pueden vehiculizarse hasta los humanos.

Los objetivos de este trabajo son: conocer la situación del agua de red de la ciudad de Bahía Blanca en lo que a MA se refiere, e identificar fenotípicamente las cepas aisladas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectaron 24 muestras de agua potable, a partir de 4 sitios de la ciudad seleccionados de acuerdo a su distancia a la planta potabilizadora. Se utilizaron botellas de vidrio estériles con 0,1 mg/litro de Tiosulfato de Na⁺, a fin de neutralizar el cloro. Se buscaron MA y bacterias coliformes, aplicando las técnicas de Leite (Fujimora Leite *et al.*, 1989) y NMP con caldo McConkey respectivamente. Se sembraron seis tubos por muestra en medio Löwestein-Jensen y se incubaron hasta 60 días a 45, 37 y 25° C en presencia y ausencia de luz. Se verificó diariamente la aparición de colonias a fin de detectar MA de crecimiento rápido y posibles contaminantes. Se analizó la morfología macro y microscópica de las colonias, y a las compatibles se les realizó la coloración de Ziehl-Neelsen (ZN). Inicialmente se aplicó la clasificación de Runyon (1959) de acuerdo al tipo de cromogenicidad de las colonias y a la velocidad de crecimiento (Diagrama 1). Posteriormente, se realizaron las siguientes pruebas bioquímicas: Niacina, NO₃, NaCl, Ureasa, Tween 80, utilización como sustratos de Inositol, Manitol y Citrato, Catalasa cuali- y semicuantitativa, Pirazinamidasas y reducción de Telurito en 3 y 9 días (Holt *et al.*, 1994; Bernardelli, 2007).

RESULTADOS

Todas las muestras estudiadas cumplieron con lo establecido por el CAA para aguas de bebida, sin embargo en el 70% de ellas (n:17) se encontraron MA.

De las cepas identificadas bioquímicamente hasta el momento (n:15), 4 correspondieron a *Mycobacterium scrofulaceum*, 3 a *M. vaccae*, 1 *M. flavescens*, y 1 *M. goodnae*. Seis, de crecimiento rápido, continúan aún en estudio.

Con los datos con que se cuenta, no se encontraron diferencias entre los sitios de muestreo ($\alpha < 0,05$).

DISCUSIÓN

Si bien la identificación de MA mediante pruebas bioquímicas tiene sus desventajas, como el tiempo necesario para la obtención de resultados, no es un método obsoleto ya que complementa los datos obtenidos por biología molecular, es sencillo y sobre todo económico.

La fenotipificación exige experiencia, el conocimiento del fundamento de las pruebas, y la realización de un número importante de ellas para obtener resultados coherentes.

La calidad bacteriológica del agua de bebida se determina rutinariamente por búsqueda y cuantificación de bacterias indicadoras de contaminación fecal, queda claro que éstas no predicen la presencia de MA. Por tanto, sería conveniente un estudio periódico de los suministros de agua, principalmente en lugares que concentran a la población de riesgo (unidades de hemodiálisis, cuidados intensivos, tratamiento de pacientes inmunocomprometidos, etc.).

En los próximos años se prevé una incidencia creciente de las interacciones entre los seres humanos y las MA, lo cual probablemente se refleje en el aumento de casos de micobacteriosis. Esto puede deberse: 1) a que la desinfección del agua de bebida con cloro selecciona las MA más resistentes y reduce la competencia, al eliminar la microbiota acompañante más sensible y 2) al aumento de la población con factores predisponentes, como el SIDA, la edad y los tratamientos inmunosupresores (Primm et al., 2004).

Por lo antedicho, se considera que sería de interés conocer la ecología fisiológica de las MA para develar los efectos que éstas tienen en los seres humanos y que permita intervenir cuando sea necesario. Los esfuerzos entonces, deben centrarse en acciones que permitan conocer y controlar el número de MA en los hábitats donde los seres humanos y los animales puedan estar expuestos.

BIBLIOGRAFÍA

- Barreira L. y Sequeira M. (2003). Manual para el diagnóstico Bacteriológico de Tuberculosis. Parte II: Cultivo, Normas y Guía Técnica. ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán, Argentina.
- Bernardelli A. (2007). Clasificación fenotípica de las Micobacterias. Manual de Procedimientos. SENASA. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. República Argentina. <http://www.senasa.gov.ar>
- Fujimora Leite C., Ferracini R. Jr., Falcao D., David H. and Lévy Prébault V. (1989). Prevalência e distribuição de micobactérias nas águas de algumas regiões do Estado de São Paulo-Brasil. Rev. Microbiol. São Paulo 20:432-441.
- Holt J., Krieg N., Sneath P., Staley J. and Williams S. (1994). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology: 597-603.-9th ed. INTERNATIONAL EDITION. Maryland, USA.

Diagrama 1. Clasificación inicial de MA de acuerdo a la velocidad de crecimiento y producción de pigmento.



5. Murray P., Baron E., Jorgensen J., Pfaller M. and Tenover F. C. (2003). Manual of Clinical Microbiology. -8th ed. Vol. 1. ASM Press. Washington DC.
6. Primm T., Lucero C. and Falkinham III Jr. (2004). Health impacts of environmental mycobacteria. Clinical Microbiology reviews. 17: 98-106.
7. Runyon EH. (1959). Anonymus mycobacteria in pulmonary disease. The Medical Clinics of North America. 43:273-290.