

DINAMICA IN VITRO DE BIOPELICULAS DE LA MICROBIOTA VAGINAL Y DE LISTERIA MONOCYTOGENES, STREPTOCOCCUS AGALACTIAE Y ESCHERICHIA COLI SOBRE LA MEMBRANA AMNIOTICA.

Investigadores USAL:

Directora Farinati, Alicia (farinati.alicia@usal.edu.ar); Arcos, Marisa; Marqués, Melina

Personal de apoyo:

Orsini, Adrian

Alumnos Practicantes USAL:

Semeshchenko Daniel, Souto, Agustina; Villanueva Rubén

Resumen:

La biopelícula de *Streptococcus agalactiae* (SGB) produce infecciones neonatales severas. Las investigaciones que se llevan a cabo no incluyen generalmente la evaluación de la formación de biopelícula (BP) que se considera factor de virulencia, resistencia y barrera inmunológica. Nuestro objetivo fue demostrar la influencia del pH en la formación de las BP. Estudiamos 12 aislamientos de muestras urogenitales. Se efectuó la determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) con la clindamicina (CLI) a pH 4.0; 7.3 y 9.0. La formación de las BP se efectuó con técnicas propias y se estudiaron cuali y cuantitativamente.

En síntesis cada aislamiento se inoculó en Trypticase Soja Caldo (TSC) a pH 4.0; 7.3 y 9.0 y un dispositivo de vidrio (DV) se colocó en cada uno. Se efectuaron los respectivos controles. La incubación se efectuó a 36°C y se observaron con microscopía óptica a las 6, 12, 24 y 48 horas previa tinción con cristal violeta. El estudio cuantitativo se efectuó con microplacas de 96 pocillos planos, se incubaron de igual manera y se leyeron con espectrofotómetro (RT 2100C absorbance mode: 450 nm). La CIM para CLI fue a pH 7.3 de 0.25 mg/l en 6/12 y de 0.5 mg/l en 6/12; a pH 9.0 fue de 0.125 mg/l en 1/12; 1.0 mg/l en 8/12 y de 2.0 mg/l en 3/12. Todos los aislamientos formaron BP pero su producción estuvo relacionada al aislamiento y no hubo diferencias significativas a los diferentes pH. En algunos se observó incremento de la BP con el incremento del pH como en la cepa 2 intensamente hemolítica. Nuestro estudio sugiere que todos forman BP a diferentes pH y que aquellos aislamientos que incrementan su BP a pH >4.5 podrían tener ventajas de sobrevivencia en la vagina ya sea cuando hay vaginitis aeróbicas por SGB pero sobre todo cuando acompañan a patologías endógenas con pH elevado como vaginosis bacteriana con el consiguiente riesgo perinatal en la mujer embarazada. CLI tuvo mejor actividad a pH elevados que le pueden proporcionar ventajas sobre otros antibióticos debido a su capacidad de penetrar en la BP y de actuar sobre el exopolímero.

Palabras clave: membrana amniótica; biopelículas, microbiota vaginal; *Streptococcus agalactiae*.

Abstract

Streptococcus agalactiae or Group B *Streptococcus* (GBS) can produce neonatal severe diseases. Common investigations do not include BF evaluation which is considered a virulence, phenotypic resistance factor and immunologic barrier. Our aim was to demonstrate the influence of different pH on BF formation from urogenital GBS. We identified 12 GBS isolates from urogenital samples. The sensitivity test and the MIC with clindamycin (CLI), were performed at pH 4.0; 7.3 and 9.0. The GBS BF was investigated using glass coupon (GC) and microtiter assays (MA) for quantitative study. Each isolate was inoculated in Trypticase Soy Broth (TSB) at pH 4.0; 7.3 and 9.0 and one GC was introduced in all tubes. Everything was done with its respective control and read by optical microscopy after 6, 12, 24 and 48 h. Microplates with 96 flat wells were used in quantitative studies.

All were incubated in similar way and were read with spectrophotometer (RT 2100C absorbance mode: 450 nm). The MIC against CLI at pH 7.3 was 0.25mg/l in 6/12; 0.5 mg/l in 6/12; at pH 9.0 was 0.125 mg/l in 1/12; 1.0 mg/l in 8/12 and 2.0 mg/l in 3/12. All isolates formed BF but their production seems strain dependent because we could not observed significant differences in the isolates at different pH. In some GBS we observed increased and in others decreased of BF formation at alkaline pH after aerobic incubation. We observed that some strains did not increased the BF formation with increased pH as strain 2. Our study suggests that all GBS are BF formers at different pHs. The GBS that showed increase in BF formation at high pH could be more pathogens, have better survival in vagina and thereby could be a risk factor for GBS perinatal infection in pregnancy, mainly with exits with other infection with increased pH as bacterial vaginosis. CLI was better in alkaline pH and can provide advantage over other antibiotics due to capacity to penetrate BF and their activity on exopolymer

Keywords: amniotic membrane; biofilms; vaginal flora; *Streptococcus agalactiae*.