

Evaluación de producción de ácido láctico por lactobacilos aislados de exudados vaginales de mujeres mexicanas embarazadas.

Daniel Omar Espinosa-Lerma^a, Pilar del Carmen Morales-san-Claudio^{a*}, Néstor Guadalupe Casillas-Vega^b, Salomón Álvarez-Cuevas^b, Hugo Sánchez-Alanís^b, Gemma Guadalupe Estrada-Ramírez^b, Yulissa Aracely Garibay-Reyna^a.

^a Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Químicas, Laboratorio de Biotecnología, Ave. Universidad S/N, Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza N.L. México, C.P. 66455.

^b Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Medicina, Av. Dr. José Eleuterio González 235, Mitras Centro, Monterrey, N.L, México, C.P. 64460

* pilar.moralessnc@uanl.edu.mx

Palabras clave: Microbiota vaginal, lactobacilos, infecciones vaginales, probióticos, ácido láctico.

Introducción

La microbiota vaginal está compuesta por *Lactobacillus spp.*, que producen ácido láctico y peróxido de hidrógeno, manteniendo el pH vaginal ≤ 4.5 . Diversos factores pueden causar disminución de poblaciones de lactobacilos, facilitando el establecimiento de bacterias y levaduras patógenas provocando infecciones vaginales¹. Los tratamientos fallidos y recurrencias de las infecciones llevaron a considerar a los probióticos como una alternativa para el tratamiento de dichas afecciones.²

Metodología

A partir de exudados vaginales de mujeres embarazadas de 12 a 40 semanas de gestación entre 18 a 42 años de edad; que no presentaran sangrado vaginal activo ni hayan tenido tratamiento con antibiótico u óvulos dos semanas antes de la toma de muestra. Se aislaron los lactobacilos, inoculando los exudados en agar sangre. Se observó la morfología de colonias y se les realizó tinción de Gram. Se sembraron en agar sangre y luego se subcultivaron en caldo Brucella con glicerol y almacenaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Posteriormente, se identificaron a nivel de género y especie mediante PCR³⁻⁴ y se les realizó una prueba de producción de ácido láctico cualitativa inoculando los lactobacilos en agar MRS modificado con púrpura de bromocresol⁵.

Resultados y discusión

En 33 aislados se observaron colonias, pequeñas, opacas y gama hemolíticas en agar sangre (figura 1A), así como bacilos Gram positivos (figura 1B) en una tinción Gram, por lo que se identificaron preliminarmente como lactobacilos.

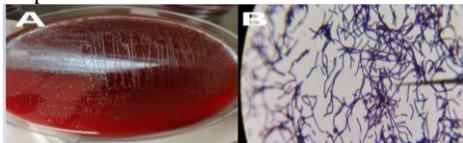


Figura 1

Se realizó la PCR para identificar a los aislados a nivel de género basándose en el análisis del gen de ARNr 16S con los primers específicos F-LBF y R-LBF. Obteniendo un producto esperado entre 150-180 pb en todas las muestras (figura 2), lo que confirma que pertenecen al género *Lactobacillus spp.*

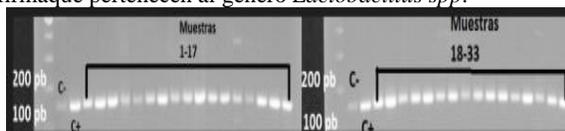


Figura 2

En la identificación por especie, se encontraron las especies *L. inners*, *L. jensenii* y *L. crispatus*.

En la identificación de la producción de ácido láctico, 17 muestras presentaron un crecimiento en el que se observó un cambio de coloración en el medio debido a la reducción de pH, tornándolo amarillo, y se considera la prueba positiva (Figura 3A), Mientras que 16 muestras no presentaron un cambio de coloración en el medio, por lo que se consideraron negativas. (figura 3B).

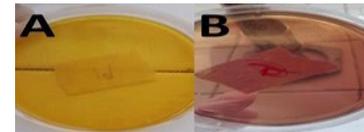


Figura 3

Conclusiones

Se logró aislar lactobacilos de exudados vaginales, además se logró determinar que de los aislados obtenidos, hay lactobacilos capaces de producir ácido láctico, por lo que la microbiota vaginal es fuente de dichos microorganismos. Sin embargo, también existieron aislados que dieron resultado negativo, por lo que no todo lactobacilo aislado de la flora vaginal es productor de ácido láctico.

Agradecimientos

- A CONACYT por beca otorgada.

- Al laboratorio de Biotecnología de la Fac. de Ciencias Químicas, al Laboratorio de Patología Clínica del Hospital Universitario y al Laboratorio de Andrología de la Fac. de Medicina por permitir trabajar en sus instalaciones.

Participación de los autores

Autor 1: Escritura, análisis de datos, realización de experimentos; Autor 2: Asesor, Revisión, proveer materiales, reactivos, equipo e instalaciones y contactar con los autores 3 y 4; Autor 3: Proveer los aislados, así como material, equipo e instalaciones para su reactivación; Autor 4: Proveer equipo, material e instalaciones para PCR; Autores 5-7: Apoyo en la realización de los experimentos.

Referencias

1. Mora, S. A. RMS. **2018**, 4, 3-13.
2. Ang, X. Y *et al.* Microorganism, **2022**, 10, 1-113.
3. Pino, A. *et al.* Sci. Rep. **2019**, 9, 1-10.
4. Collins, S. L. *et al.* Appl Environ. Microbiol. **2017**, 84, 1-155.
5. Pramanick, R. *et al.* JIDC. **2018**, 12, 1096-1104