



COMPARACIÓN DEL CRECIMIENTO AXÉNICO DE *Balamuthia mandrillaris* EN DOS MEDIOS DE CULTIVO BAJO DIFERENTES CONDICIONES ATMOSFÉRICAS.

Ricardo Alfredo Gámez Gutiérrez, Luis Fernando Lares Jiménez, Fernando Lares Villa, Instituto Tecnológico de Sonora. Departamento de Ciencias Agronómicas y Veterinarias. Ciudad Obregón, Sonora, CP 85000, ricardogamez7@hotmail.com

Palabras clave: amibas de vida libre, axenización, encefalitis amibiana granulomatosa.

Introducción. La amiba de vida libre *Balamuthia mandrillaris* es causante de encefalitis amibiana granulomatosa en los seres humanos y otros animales (1). Esta amiba al igual que otras como *Mayorella gemmifera*, *Saccamoeba* y varias especies de *Naegleria*, son consideradas difíciles de crecer en el laboratorio ya que necesitan de cultivos celulares para su aislamiento, razón por la cual éste ha sido escaso. En el laboratorio hemos podido desarrollar un nuevo medio (2), para el cultivo axénico de la amiba, siendo este mucho más sencillo de preparar y de menor costo que el existente BM-3 (3). Para este estudio, se compararon ambos medios sometidos a atmósferas con presencia de oxígeno y de CO₂ al 5%. Posteriormente se midió el tiempo de generación.

Metodología. Para los ensayos, se prepararon 20 botellas de cultivo conteniendo BM-3 y 20 con el medio modificado, ambas suplementadas con suero fetal de ternera al 10% adicionado con antibióticos. 1×10^5 amibas de una cepa (ITSON-5W) (4) fueron inoculadas en cada botella y se incubaron a 37 °C, 10 de cada medio en atmósfera de oxígeno y 10 en atmósfera con CO₂ al 5%. Para el conteo, se despegaron las amibas por choque térmico y se traspasaron a tubos de ensayo, centrifugados a 1700 rpm por 10 min. Se descartó el sobrenadante y el botón se re suspendió en 1 mL. Se tomaron 10 µL y se realizó una dilución 1:10 con azul Tripán. El conteo celular se realizó en una cámara de Neubauer por triplicado por un lapso de 9 días. Una vez obtenidas las cuentas de amibas se procedió a realizar una gráfica para observar claramente las diferencias en velocidad de crecimiento y rendimientos logrados para cada medio y condición de cultivo.

Resultados. Tras observar los resultados graficados de los diferentes conteos se pudo observar que el rendimiento alcanzado con el medio BM-3 fue de 1.8×10^6 amibas/mL mientras que en el medio modificado fue de 1.3×10^6 amibas/mL. El tiempo de generación en el medio BM-3 de 38.46 horas y de 52.79 para el nuevo medio, lo que concuerda con reportes donde *B. mandrillaris* tiene un tiempo de generación de 18-50 h (1). Comparando ambos medios se puede apreciar que el BM-3 es más eficiente para multiplicar las amibas, sin embargo el medio modificado soporta bien el crecimiento y aunque más lento en comparación, todavía se observaba la fase de crecimiento acelerado hasta el momento en que se

paró el experimento. También se aprecian las diferencias del desarrollo de cada tratamiento en cada una de las atmósferas, donde BM-3 es más efectivo en una atmósfera de oxígeno, y en su contraparte el medio modificado se desempeña mejor en CO₂.

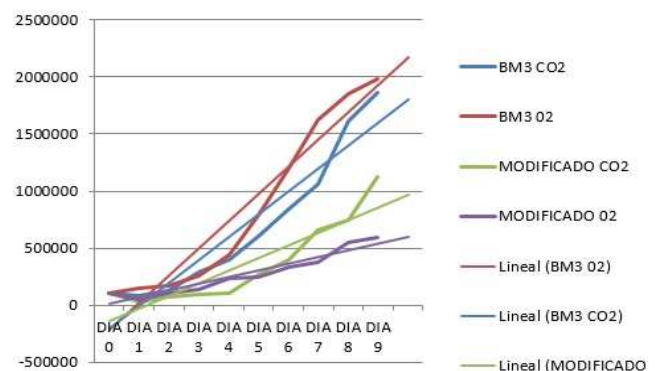


Figura 1. Curvas de crecimiento de *B. mandrillaris* obtenidas de dos tipos de medios de cultivo axénico y en diferentes condiciones atmosféricas.

Todavía no tenemos respuesta a este cambio en el comportamiento del crecimiento para el medio modificado, pero creemos que se debe a la falta de algún o algunos nutrientes proporcionados por el BM-3.

Conclusión. El medio BM-3 es mejor para reproducir un mayor número de amibas y en menor tiempo, pero el medio modificado parece mantener vivas las amibas por un tiempo más prolongado por lo que se recomienda como medio de conservación y teniendo en cuenta su bajo costo de producción y su facilidad de preparación, resulta una buena alternativa para el cultivo axénico de *B. mandrillaris*.

Bibliografía.

1. Siddiqui, R., Khan, N.A. 2015. *Balamuthia mandrillaris*: Morphology, biology, and virulence. Trop. Parasitol. 5: 15-22.
2. Lares-Jiménez, L.F., Gámez-Gutiérrez, R.A., Lares-Villa, F. 2014. Novel culture medium for *Balamuthia mandrillaris*. XIII ICOPA, México, Abstract.
3. Schuster, F.L., Visvesvara, G.S. 1996. Axenic growth and drug sensitivity studies of *Balamuthia mandrillaris*, an agent of amebic meningoencephalitis in humans and other animals. J. Clin. Microbiol., 34(2):385-388.
4. Lares-Jiménez, L.F., Booton, G.C., Lares-Villa, F., Velázquez-Contreras, C.A., Fuerst, P.A. 2014. Genetic analysis among environmental strains of *Balamuthia mandrillaris* recovered from an artificial lagoon and from soil in Sonora, Mexico. Exp. Parasitol. 145:S57-S61.