AÑO 2019
N°32

Técnicas de microbiología dependientes de cultivo

Fecha Publicación:
14/05/2019

Elaborador Por:
Edinson Puentes
Dr. rer. nat.

DIVULGA
CORROSIÓN E INTEGRIDAD

NUEVAS TECNOLOGÍAS PARA LA VALORACIÓN DE LA CORROSIVIDAD MICROBIOLÓGICA

La corrosión influenciada microbiológicamente o biocorrosión es un fenómeno de pérdida de matriz metálica causada o acelerada por la acción de microorganismos o de sus productos metabólicos.

En términos generales, el inicio de los procesos biocorrosivos está asociado a la formación de biopelículas, la cuales permiten que los microorganismos entren en contacto estrecho con la superficie metálica mientras a su vez crean un microambiente con amplios gradientes de pH, oxígeno disuelto y especies químicas que propician el desarrollo de comunidades microbianas complejas que pueden generar daños y pérdidas de espesor considerables en las infraestructuras (Fig 1).

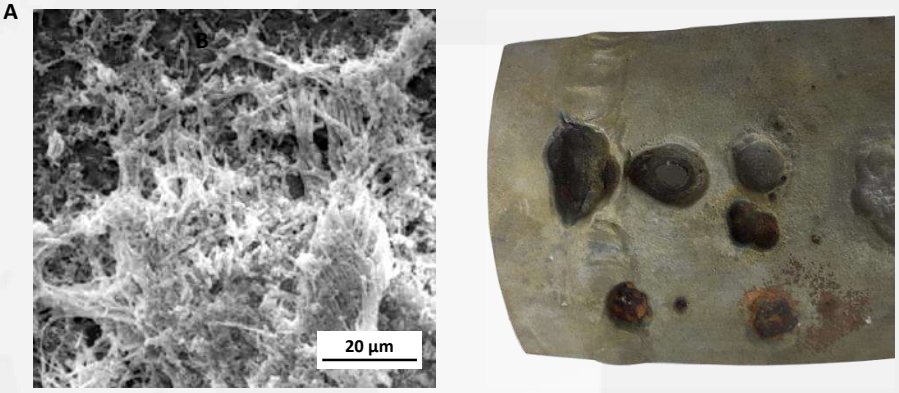

Fig. 1. A. *Microfotografía de biopelícula adherida a biocupón metálico;* ***B.*** *Morfología típica de falla asociada a biocorrosión.*

Tradicionalmente, los análisis de valoración de la biocorrosividad se basan en métodos que dependen de la recuperación de microorganismos en cultivo (p.ej. Extinción por Dilución Seriada - *EDS*, Número Más Probable – *NMP*, etc.), los cuales a pesar de sus conocidas desventajas (bajas tasas de recuperación en cultivos [<1%]), y largos tiempos de incubación [hasta 28 días], han sido los de mayor aceptación en la industria.

Menos frecuente es la utilización de métodos moleculares (p.ej. Hibridización *in situ* – *FISH*, Reacción en Cadena de la Polimerasa – *PCR*, etc.), los cuales por su complejidad y altos costos habían estado limitados principalmente al uso académico.

No obstante, los últimos desarrollos en el campo de la biología molecular han puesto al alcance de la industria un amplio abanico de técnicas para el análisis microbiológico que no requieren del cultivo. Éstas permiten analizar la totalidad de los microorganismos presentes en una muestra (cultivables y no cultivables), con bajos tiempos de procesamiento, y una relación costo/beneficio competitiva (Fig. 2).

Implementación de técnicas de biología molecular y biotecnología

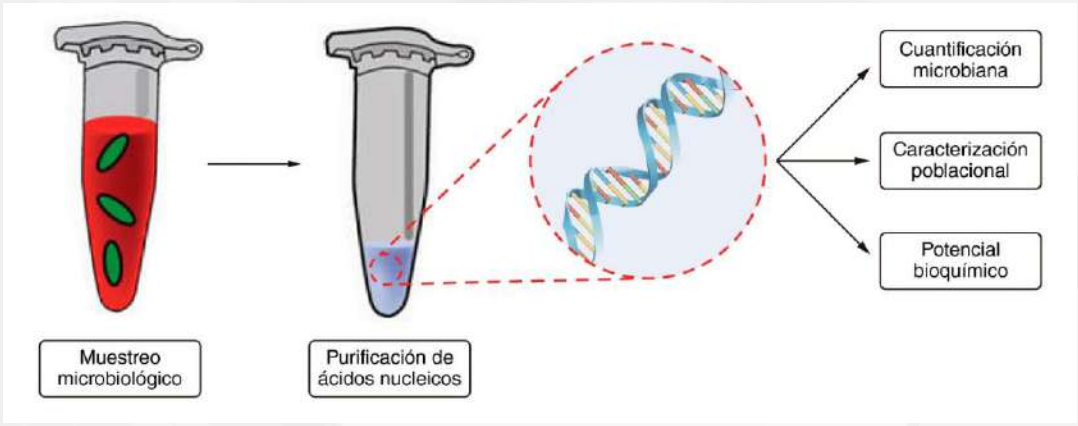

Figura 2. *Flujograma general de caracterización biomolecular de muestras ambientales.*

La Corporación para la Investigación de la Corrosión (C.I.C.) adelanta en el marco de su misión, proyectos para implementar, adaptar y transferir algunas de dichas tecnologías al sector industrial colombiano. Para ello ha iniciado un proceso de modernización del laboratorio de Biocorrosión, mediante la adquisición de equipos de última tecnología y la capacitación de su personal en técnicas de biología molecular. Entre los métodos recientemente introducidos al portafolio C.I.C. se encuentra la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR); una técnica robusta con un amplio rango dinámico de detección que permite la cuantificación de diversos grupos microbianos a partir de la determinación del número de copias de genes específicos presentes en una muestra (Fig. 3).

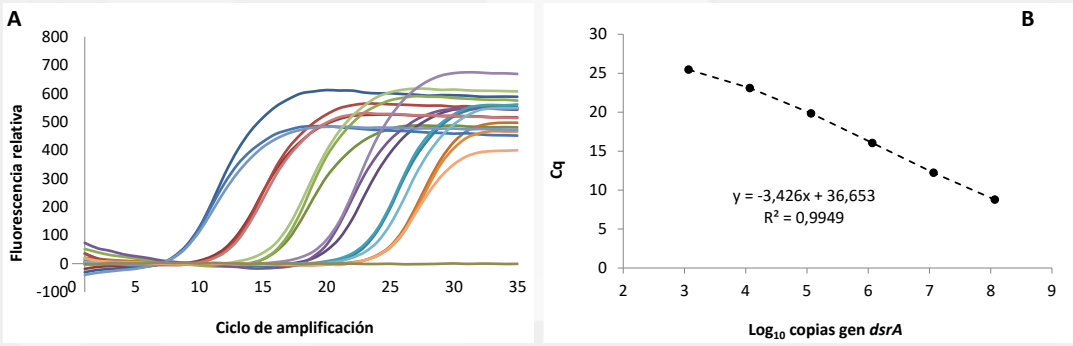

Fig. 3. Curvas de estandarización del recuento molecular de Bacterias Sulfato Reductoras. A. *Curva de amplificación de estándares ADN en tiempo real [triplicados];* ***B.*** *Curva de calibración para cuantificación de BSR mediante detección del gen dsrA.*

Este método de cuantificación microbiana no requiere de cultivos y reduce el tiempo de entrega de resultados de un mes a una semana. La técnica ha sido adaptada en nuestro laboratorio para cuantificar Bacterias Totales (BT) y Bacterias Sulfato Reductoras (BSR) a partir de muestras líquidas acuosas, sólidos de limpieza interna de tuberías, suelos y biopelículas. Actualmente, se encuentra en proceso la estandarización del método para la cuantificación de otros grupos bacterianos de interés industrial.

Adicionalmente, se está trabajando hacia la implementación de técnicas de análisis metagenómico y metatranscriptómico; la cuales permitirán determinar la composición de las comunidades bacterianas, además de comprender las interacciones entre organismos y entre éstos con la infraestructura.

Corporación para la Investigación de la Corrosión