

TIPIFICACIÓN CAPSULAR DE
AISLAMIENTOS DE *Streptococcus*
agalactiae DE NEUQUÉN,
UTILIZANDO UNA PCR MULTIPLEX

Autor: Bqca. Teresita Guyot

Director: Mg. Esp. Luis Alfredo Pianciola

GENERALIDADES

Streptococcus agalactiae

- *Diplococo gram positivo*
- *Capsulado*
- *Anaerobio facultativo*
- *Beta hemolítico en agar sangre ovina*
- *Inmóvil*
- *Catalasa (-), oxidasa (-), Hipurato(+), CAMP (+)*



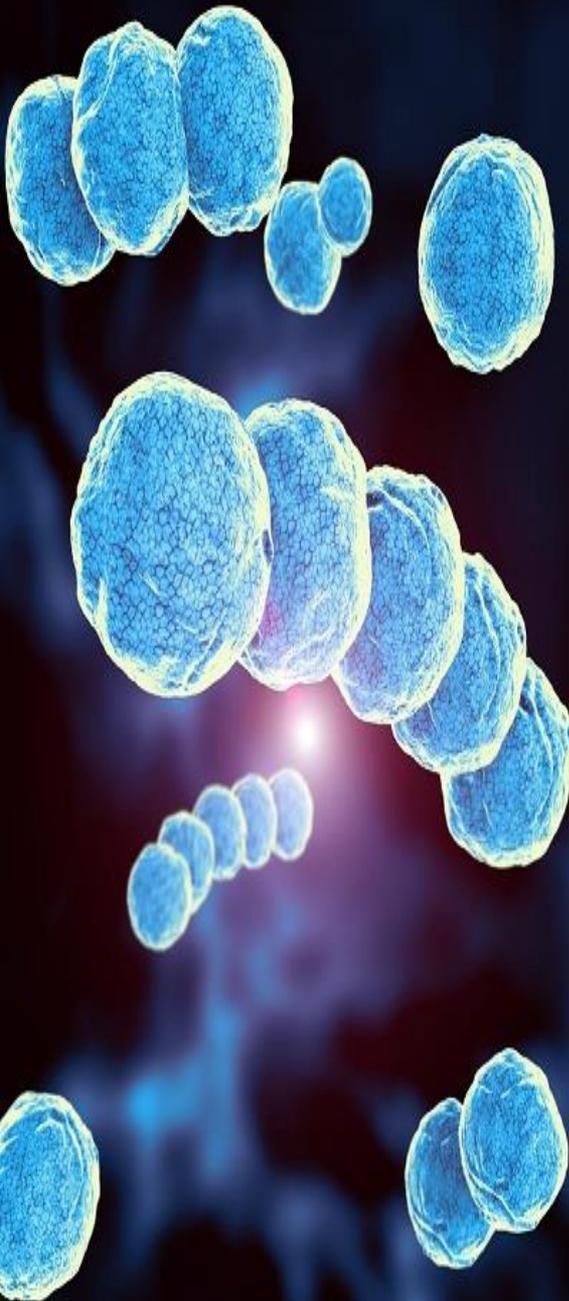
B
G
S

PARED CELULAR

Rebeca Lancefield clasifica a *Streptococcus agalactiae* , según su antígeno polisacárido de pared, como perteneciente al grupo B



Este polisacárido de pared carece de capacidad inmunogenica



CÁPSULA

Por fuera de la pared celular se encuentra la cápsula de naturaleza polisacárida, específica de tipo, importante factores virulencia.

Actualmente se reconocen diez tipos capsulares denominados

Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, VIII y IX

La distribución de los tipos capsulares presenta variaciones en el tiempo y según área geográfica

El polisacáridos capsular es inmunogénicos

Epidemiología e importancia clínica

Streptococcus agalactiae o Streptococcus beta-hemolítico del grupo B(SGB):

- Flora colonizante del trato digestivo humano
- puede colonizar el tracto genital femenino sin provocar síntomas ni daño
- sin medidas de prevención es la principal causa de infección neonatal
- Infección en adultos con patologías subyacentes



MATERIALES Y MÉTODOS

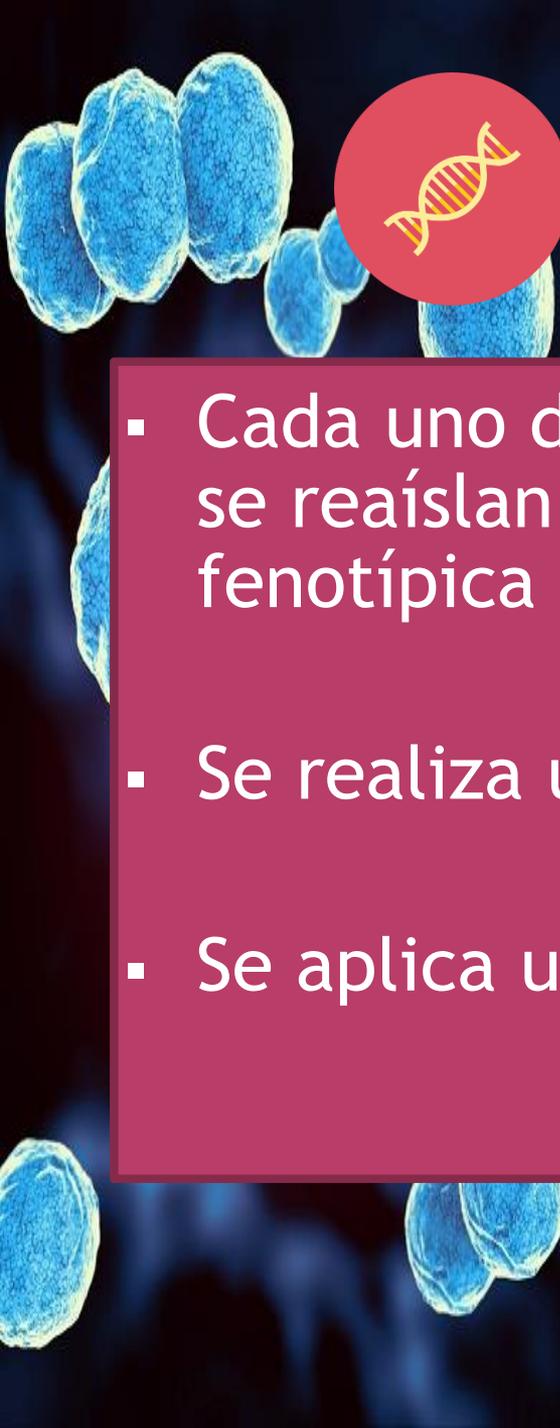
Se estudiaron :

- 77 cepas de *S. agalactiae*
- Periodo 2013-2015
- 60 aislamientos Colonización vagino-rectal
- 17 aislamiento de sitio estériles
- Se conservaron en glicerol a -70°C



Se usaron como cepas de referencia un panel de seis cepas de SGB, con tipos capsulares conocidos (Ia, Ib, II, III, V, IX), proporcionados amablemente por la **Dra Margarita Laczeski** (Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Posadas, Misiones, Argentina).





EXTRACCIÓN DE ADN

- Cada uno de los aislamientos de SGB guardado se reaíslan en ASO, se les realiza tipificación fenotípica (CAMP e Hipurato).
- Se realiza una suspensión en agua destilada
- Se aplica un protocolo de extracción de ADN



PCR CONVENCIONAL ESPECÍFICA DE ESPECIE-*S. agalactiae*

- Total concordancia con la tipificación fenotípica
- Banda de 952 pb, demuestra la presencia de genoma de *S. agalactiae*

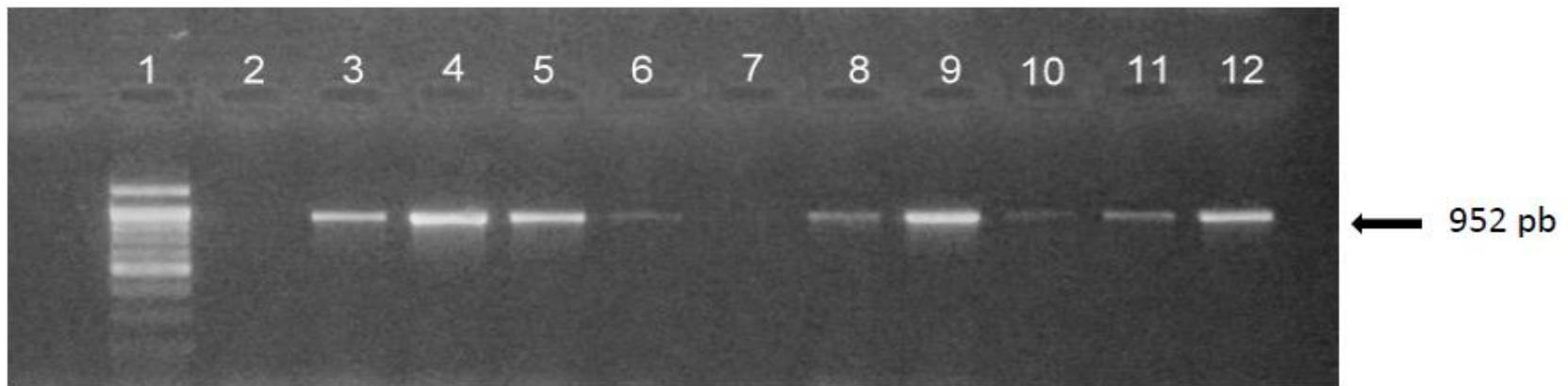


Figura 2: Electroforesis en gel de agarosa 1.5% de los productos de PCR del gen SGB *dltS*.
Calle1: Marcador Molecular 1500 pb, calles 2 y 7: controles negativos, calle 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10,
11: aislamientos de *S. agalactiae*, calle 12: control positivo.

PCR MULTIPLEX PARA TIPIFICACIÓN CAPSULAR DE *S. agalactiae*



- Se utilizó la PCR multiplex descrita por Poyart *et. al.*, (2007)
- Se realizaron 2 reacciones de PCR:
 - PCR I: utiliza cebadores específicos para CPS Ia, Ib, II, III y IV.
 - PCR II: utiliza cebadores específicos para CPS V, VI, VII y VIII

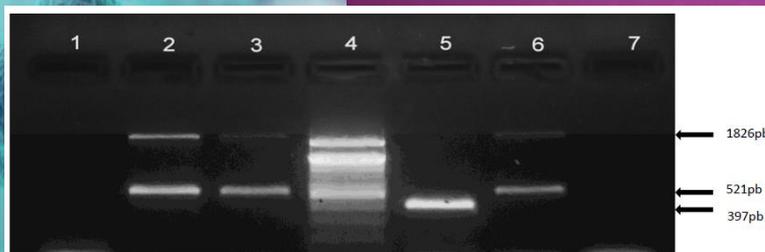


Figura 4: Electroforesis en gel de agarosa 1.5 % de los productos de la PCR multiplex de los polisacáridos capsulares Ia, Ib, II, III, IV. Calles 1: negativo, calles 2, 3, 6: positivo para SGB Ia, calle 4: Marcador de peso molecular 1500 pb, calles 5: positivo para SGB II, calle 7: control Negativo

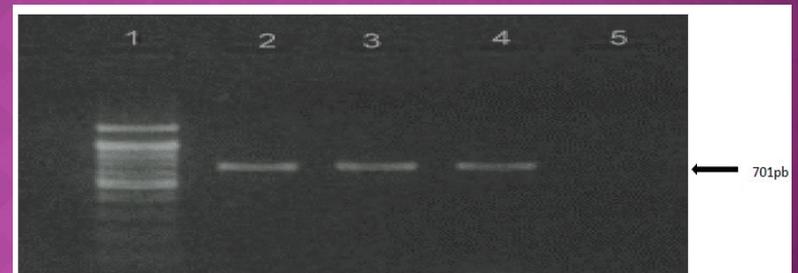
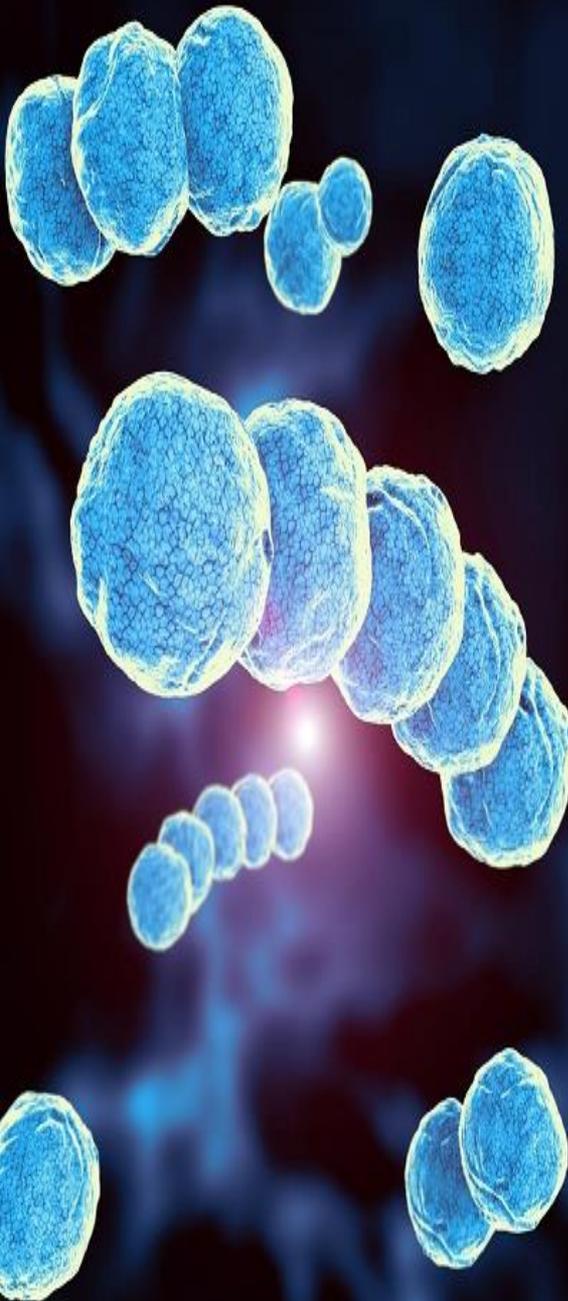
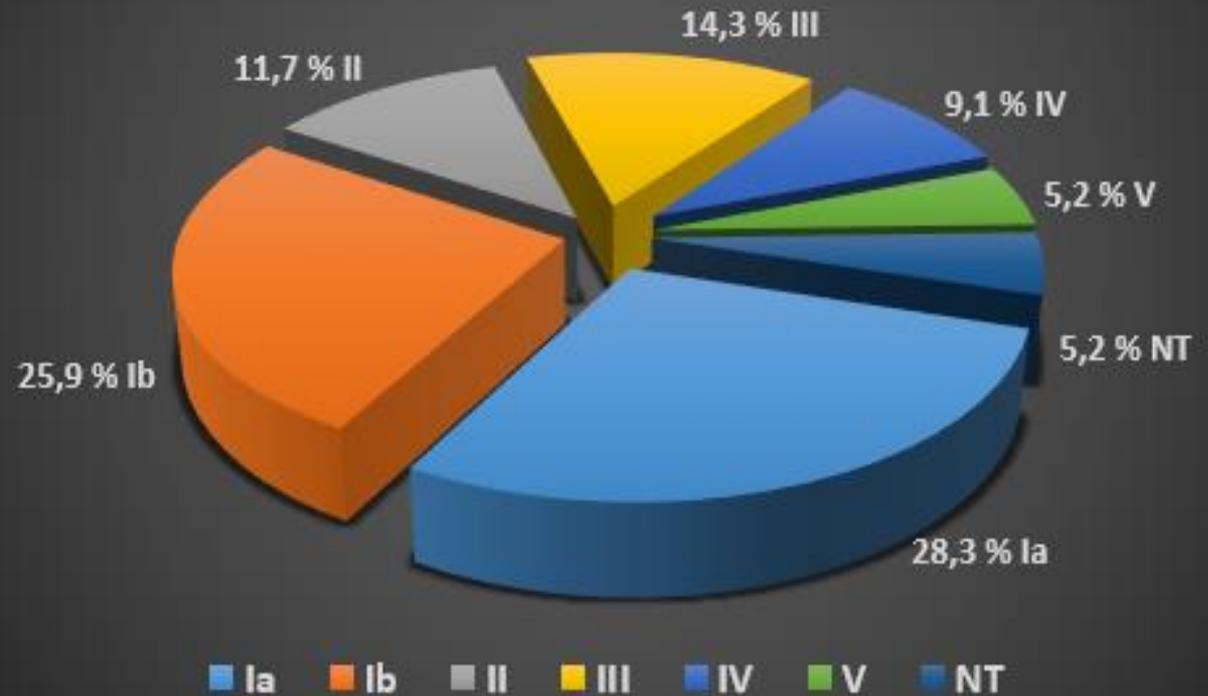


Figura 5: Electroforesis en gel de agarosa 1.5 % de los productos de PCR multiplex de los polisacáridos capsulares V, VI, VII, VIII. Calles 1: marcador de peso molecular de 1500 pb, Calle 2-4: positivo para SGB V, calles 5: control Negativo

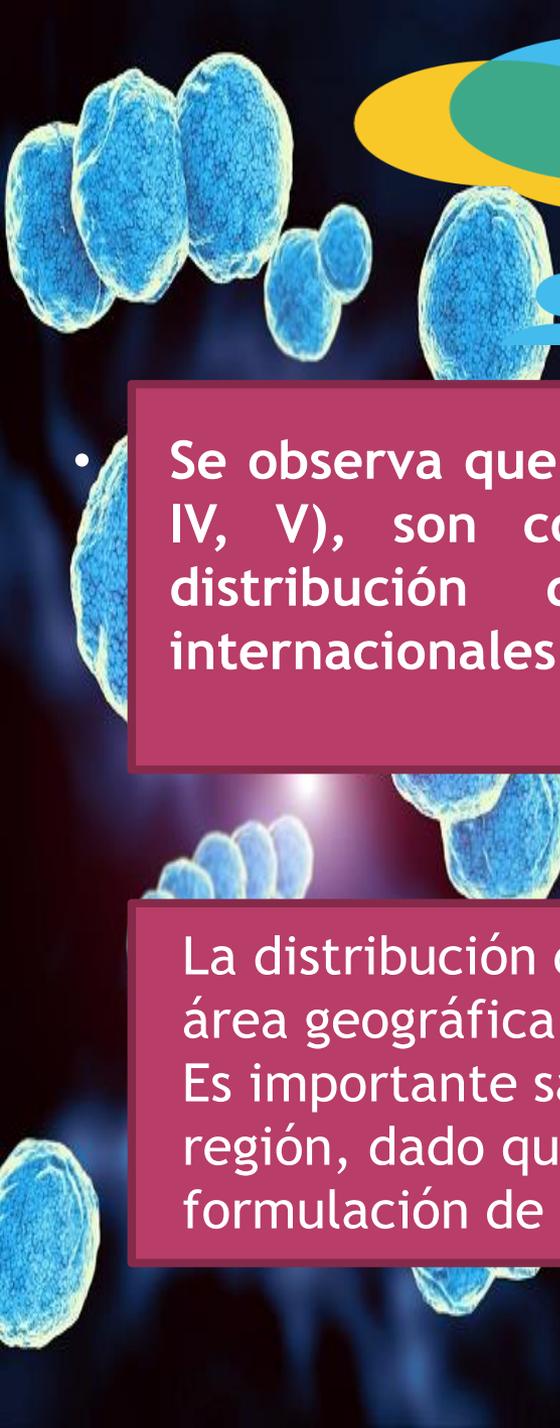
RESULTADOS



Distribución de polisacáridos capsulares de *S. agalactiae*



Distribución de polisacáridos capsulares de 77 aislamientos de *S. agalactiae*

- 
- 
- Se observa que los seis tipos capsulares encontrados (Ia, Ib, II, III, IV, V), son comunes a los obtenidos en otros estudios de distribución de *S. agalactiae*, tanto nacionales como internacionales.

La distribución de los tipos capsulares está altamente relacionada al área geográfica.

Es importante saber los tipos capsulares de SGB circulantes en cada región, dado que la distribución de los mismos es un requisito en la formulación de estrategia vacunales.



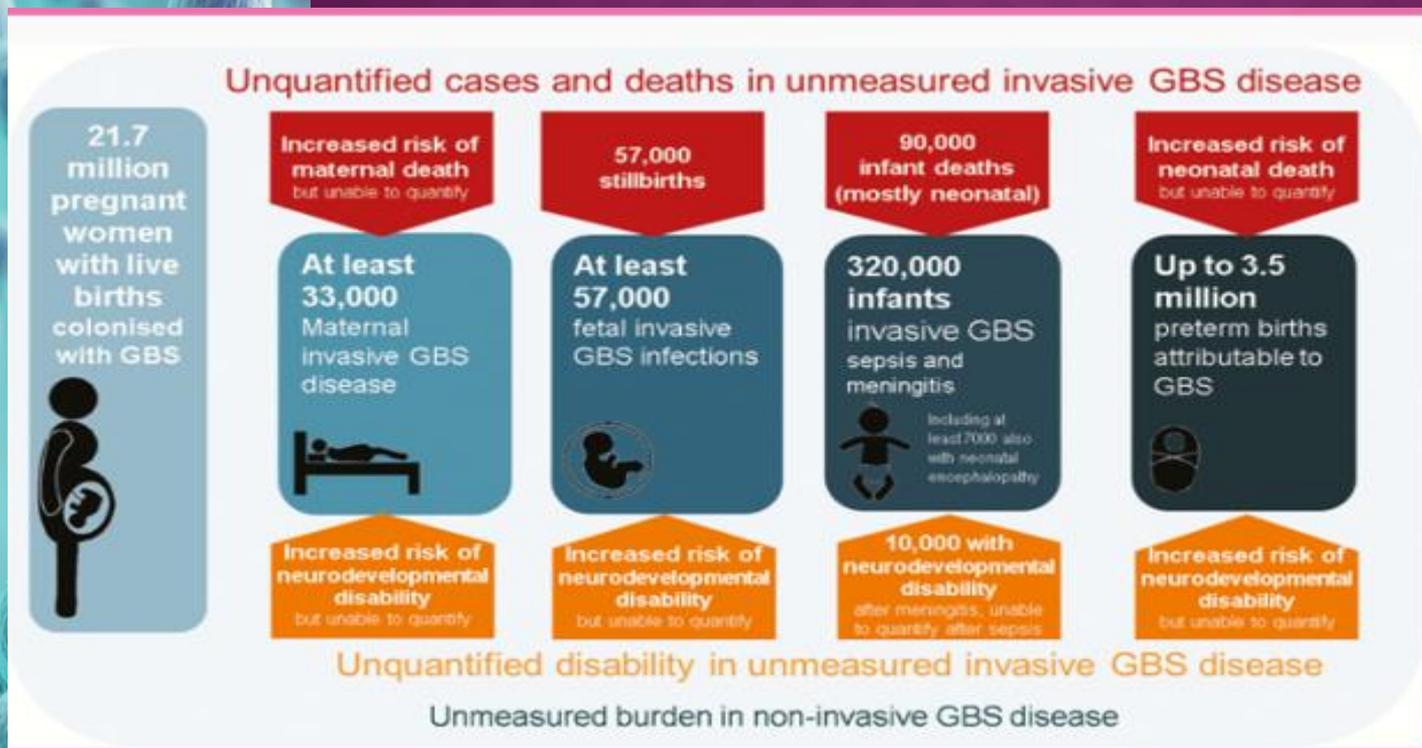
Desde el punto de vista epidemiológico es importante contar con técnicas moleculares como PCR Multiplex , que presentan mayor sensibilidad y especificidad que los métodos serológicos, para caracterizar el patrón de distribución de genotipos prevalentes en cada región, y poder implementar estrategias vacunales adecuadas

Con lo cual el modelo de una vacuna conjugada multivalente compuesta por los serotipos Ia, Ib, II, III, V y un componente proteico, propuesta por Brimil *et al.*, (2006), sería apropiado en nuestro medio.

Estimaciones de la carga de la enfermedad estreptocócica del grupo B en todo el mundo para mujeres embarazadas, muerte fetal y en niños

Anna C Seale Fiorella Bianchi-Jassir Neal J Russell Maya Kohli-Lynch Cally J Tann Jenny Hall Lola Madrid Hannah Blencowe Simon Cousens Carol J Baker ...

Clinical Infectious Diseases , volumen 65, edición supl_2, 6 de noviembre de 2017



Una vacuna materna con un 80% de eficacia y un 90% de cobertura podría evitar 107000 mortinatos y muertes infantiles.



Ayuda

