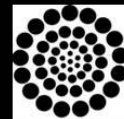


RIBOTIPIFICACIÓN: UNA HERRAMIENTA PARA LA VIGILANCIA MOLECULAR DE *Clostridiodes (Clostridium)* *difficile*

Luis Pianciola



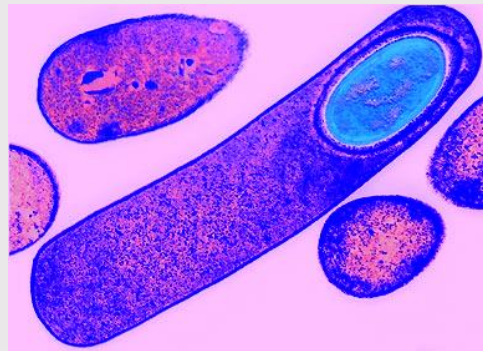
LABORATORIO CENTRAL
NEUQUEN



X Jornadas Bioquímicas
Provinciales

Clostridiodes (Clostridium) difficile

- Bacilos Gram positivos de 4-8 x 0.5 μm
- Forman esporas ovales, terminales o subterminales y altamente resistentes:
 - Temperatura
 - UV
 - Agentes químicos
 - Antibióticos.
- Anaerobios estrictos
- Móviles
- Crecimiento óptimo a 37° C

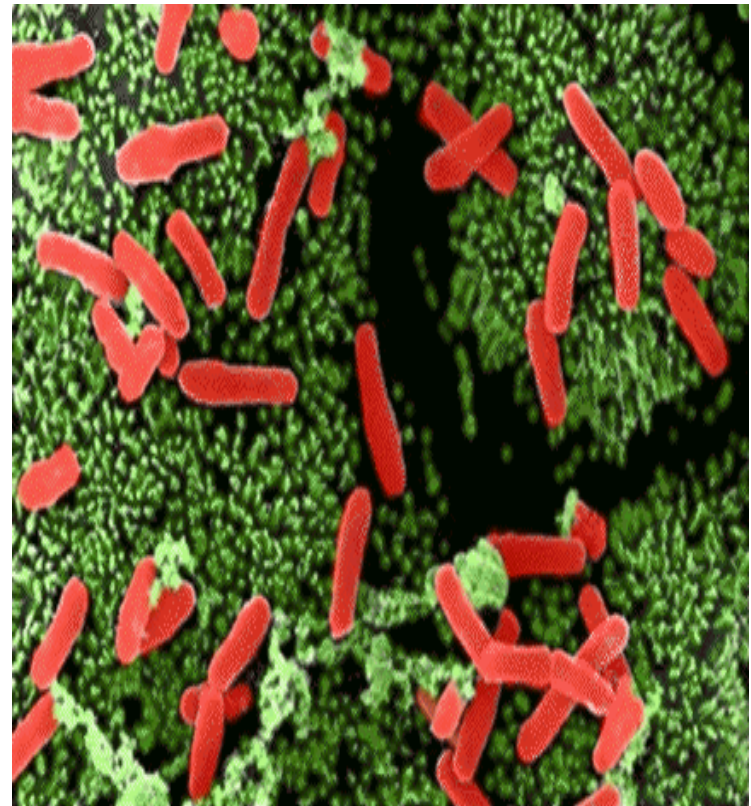


Factores de virulencia

Variable en cada cepa

(25% no patógenas)

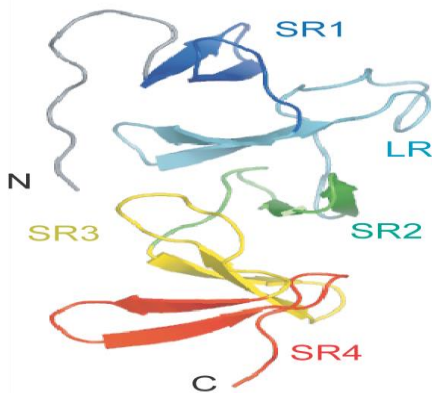
- ❑ Toxina A: enterotoxina
- ❑ Toxina B: citotoxina
- ❑ Factor de adhesión
- ❑ Hialuronidasa
- ❑ Formación de esporas



Toxinas

Toxina A

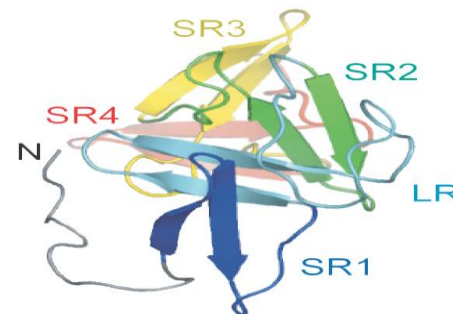
- Enterotoxina
- Hipersecreción de fluídos (citokinas)



Toxina A

Toxina B

- Citotoxina
- Muerte celular por alteración del citoesqueleto de actina



Toxina B

Patologías

- ✓ Colonización asintomática
- ✓ Diarrea autolimitada
- ✓ Megacolon tóxico
- ✓ Colitis pseudomembranosa fulminante

Diagnóstico: varias metodologías....

Detección
de
toxinas

- EIA
- Citotoxicidad en cultivos

Detección
de CD

- Determinación de GDH
- PCR
- Cultivo de heces

Aspectos epidemiológicos destacables

Transmisión intranosocomial

Aparición de genotipos hipervirulentos

Aparición de genotipos resistentes a ATB

Aparición de cepas comunitarias

Hipervirulencia en genotipos 027 y 078

Hiperproducción de toxinas

Producción de toxina binaria

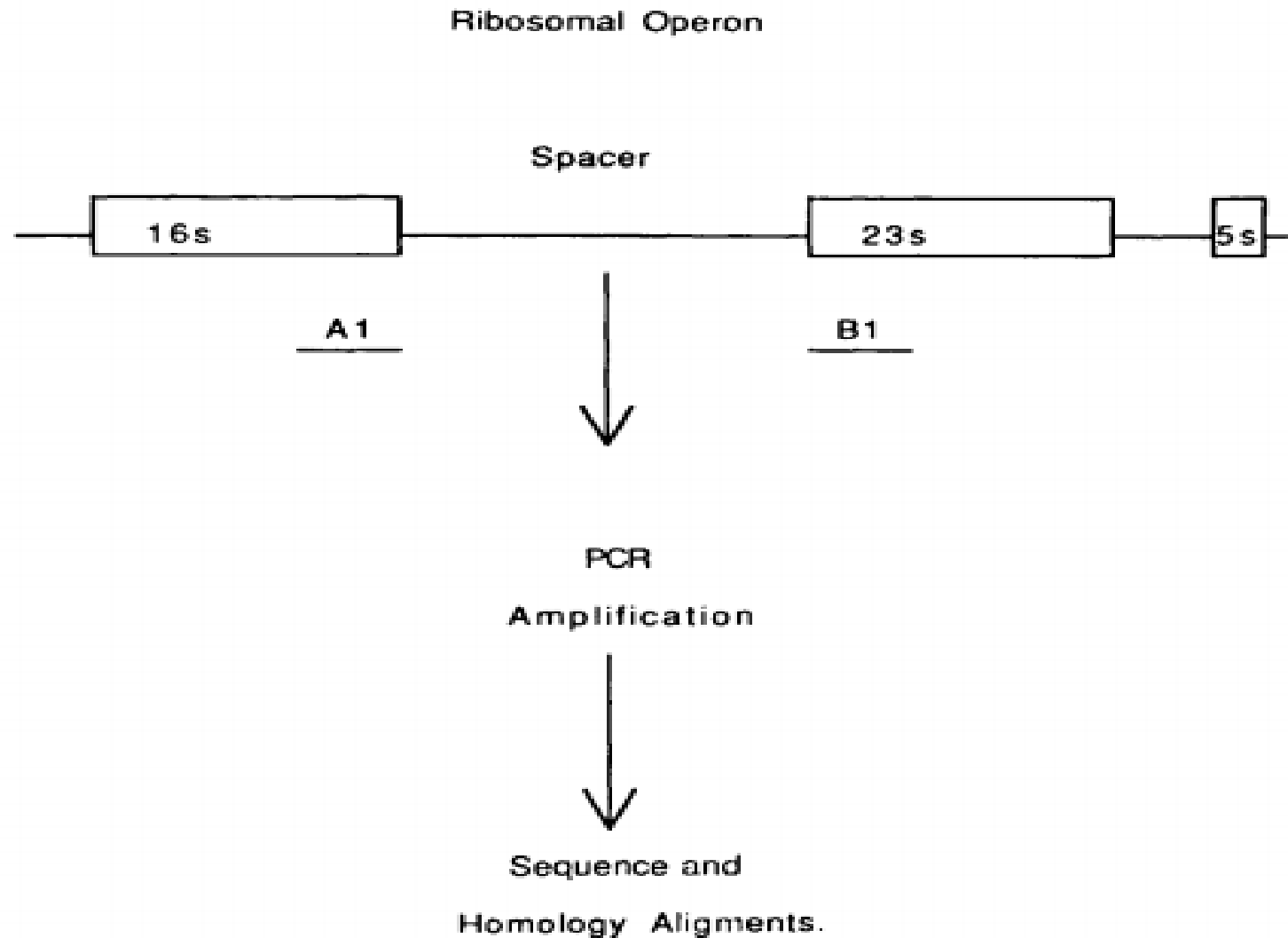
Resistencia antibiótica

Objetivos de la subtipificación molecular

Detectar la circulación de genotipos relacionados a hipervirulencia y/o resistencia a antibióticos

Detectar transmisión intranosocomial

Ribotipificación



Ribotipificación

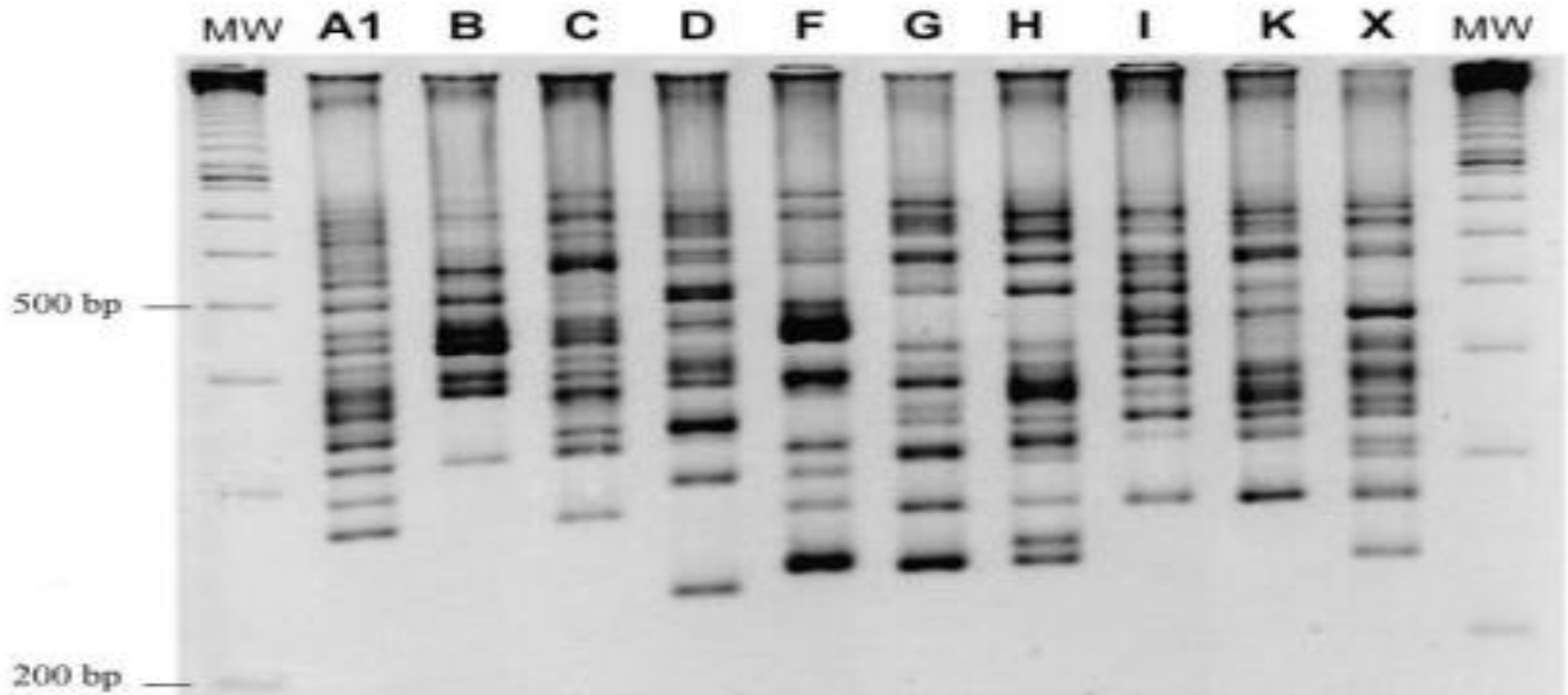


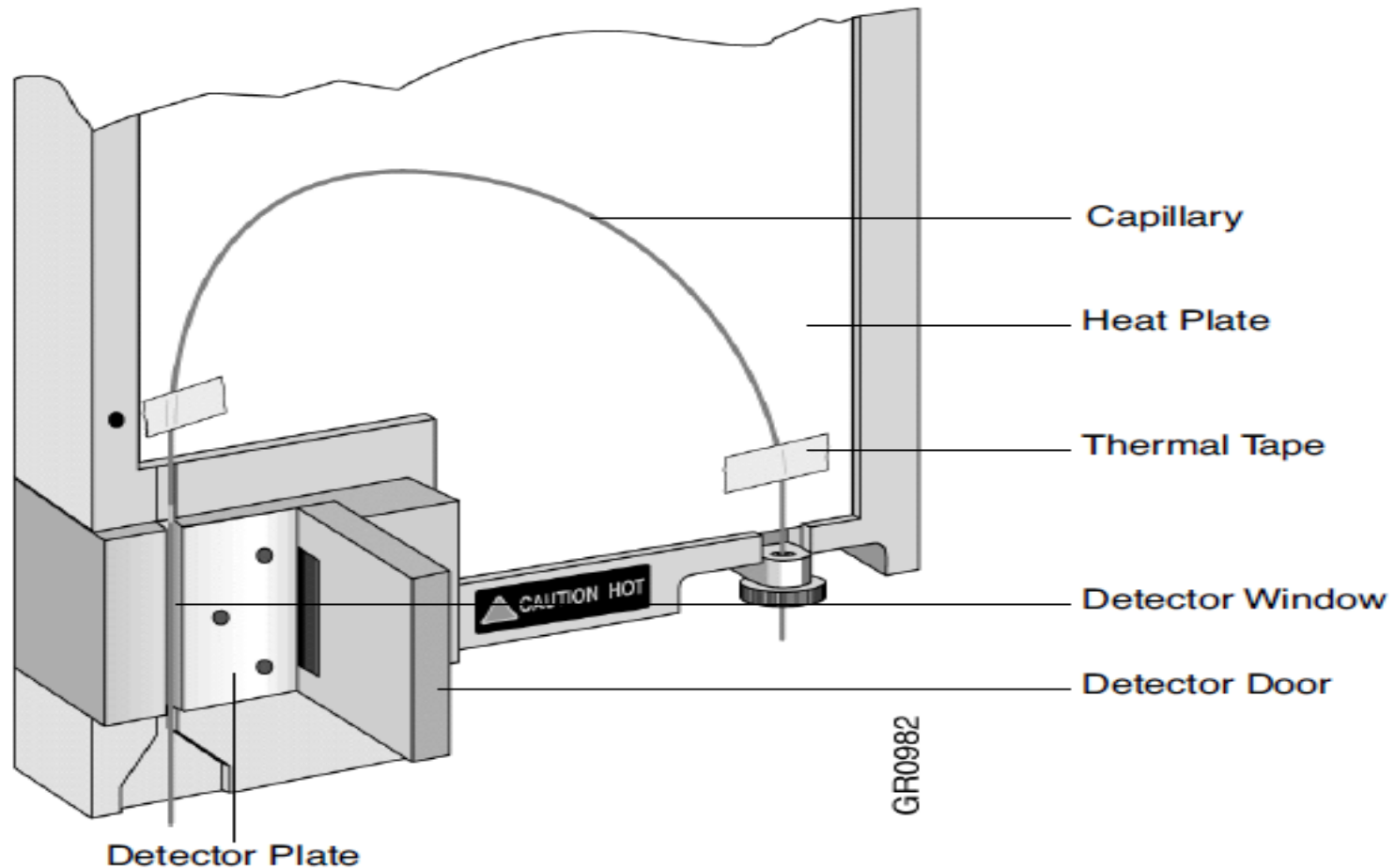
Fig. 3. New PCR-ribotyping fingerprints of 10 *C. difficile* serogroups. MW: 100-bp molecular mass marker (Pharmacia).

Philippe Bidet *, Frédéric Barbut, Valérie Lalande, Béatrice Burghoffer,
Jean-Claude Petit

FEMS Microbiology Letters 175 (1999) 261–266

Electrophoresis capilar

Detection Region Diagram The following is a diagram of the Detection Region.



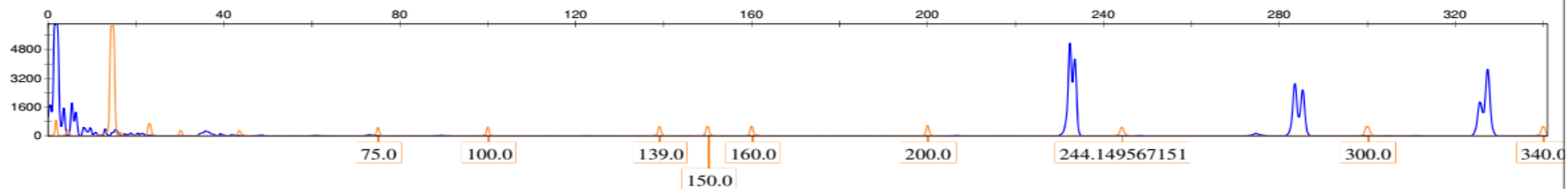
Electroferogramas

AB Applied Biosystems
GeneMapper® ID-X 1.4

Project: cd RIBOTIPOTOS 22-12-2016

Sample Name

23278

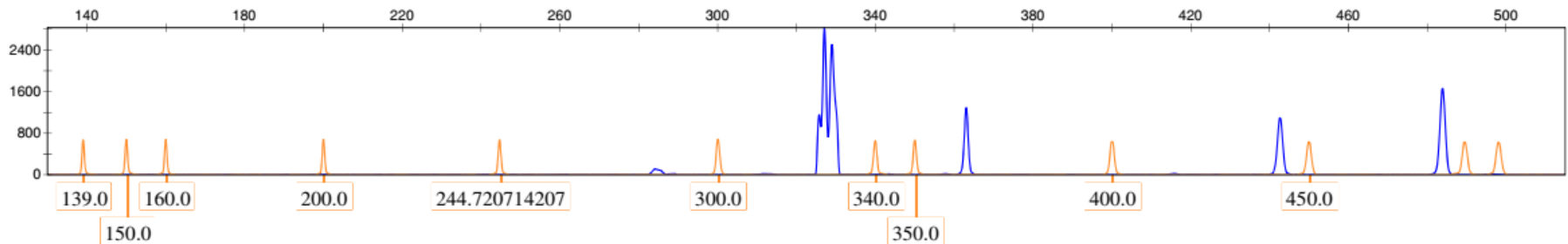


AB Applied Biosystems
GeneMapper® ID-X 1.4

Project: CD RIBOTIPOS 18-11-2016

Sample Name

18966




Análisis vía web: WEBRIBO

Browser tabs: (25 no leídos) - lu x Radio Mitre - La r x Radio Mitre Al x Facebook x "El peronismo fue x Chapelco Ski Res x Webribo x

Address bar: Es seguro | https://webribo.ages.at

Search bar: Yahoo - Ingreso Diarios Radios Clima PubMed Facebook SIPS Curso: Curso Virtual Traductor de Google Sci-Hub: removing Otros marcadores



WEBRIBO

[Home](#)

Welcome!
WEBRIBO allows you to automatically analyse and compare your Clostridium difficile capillary-sequencer-based PCR-ribotyping-data and simplifies laboratory PCR-ribotyping methods.


Email:

Password:

[Forgot your password?](#)


[Create user account](#)

[Help](#)



Windows taskbar: 8:35 a. m. 31/8/2018

WEBRIBO



WEBRIBO

Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH

[Home](#) [Download](#) [Upload](#) **[Data](#)** [Results](#) [Report](#) [My Account](#) [Logout](#)

Data Section

Enter your peak-size and peak-height data in the table below. For a valid data-analysis the peak-heights must be entered for every fragment. Peaks smaller than 200bp and higher than 620bp should not be counted, The highest peak should not be lower than 1200 and not be higher than 5500 to give comparable results. After finishing your data input, click "Send" to view your result.

Country:*

Settings:*

Key:*

Lane	Size	Height	Lane	Size	Height	Lane	Size	Height
1:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	18:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	35:	<input type="text"/>	<input type="text"/>
2:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	19:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	36:	<input type="text"/>	<input type="text"/>
3:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	20:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	37:	<input type="text"/>	<input type="text"/>
4:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	21:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	38:	<input type="text"/>	<input type="text"/>
5:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	22:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	39:	<input type="text"/>	<input type="text"/>
6:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	23:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	40:	<input type="text"/>	<input type="text"/>
7:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	24:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	41:	<input type="text"/>	<input type="text"/>
8:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	25:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	42:	<input type="text"/>	<input type="text"/>
9:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	26:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	43:	<input type="text"/>	<input type="text"/>
10:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	27:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	44:	<input type="text"/>	<input type="text"/>
11:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	28:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	45:	<input type="text"/>	<input type="text"/>
12:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	29:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	46:	<input type="text"/>	<input type="text"/>
13:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	30:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	47:	<input type="text"/>	<input type="text"/>
14:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	31:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	48:	<input type="text"/>	<input type="text"/>



Windows taskbar: 8:46 a. m. 31/8/2018

Ribotipificación

Sample: [24076_rep](#)
Settings: ABI 310/Liz 600/Pop 4/50 cm/60° C/Bidet

Ribo Type

This ribo type was found by an automated algorithm to be the best match for the selected sample. Because of it found by the algorithm has no meaning at all. Manual handling is required.

Ribo Type Refresh Image

Settings: **ABI 3130 Series/Liz 1200/Pop 7/36 cm/50° C/Bidet**

Distance: 4,67

Left Side: Your Sample - Right Side: 014/5

lane stretch factor (right): 0.9773

233.4	=====	=====	231.56
235.4			233.54

265.12	=====	=====	264.11
--------	-------	-------	--------

306.2	=====	=====	304.19
308.94			305.25

327.21	=====	=====	325.24
--------	-------	-------	--------

480.7	=====	=====	483.35
482.01			485.45

519.3	=====	=====	524.52
-------	-------	-------	--------

538.01	=====	=====	543.97
			546.41

Ribotipificación Laboratorio Central

Fecha	Protocolo	Ribotipo
20/9/2013	10745	002/2
7/10/2013	10904	87
12/11/2013	11199	12
15/10/2015	18073	014/5
15/10/2015	18074	014/0
20/11/2015	18614	118
13/1/2016	18966	014/0
3/11/2016	23728	AI-78
13/12/2016	24076	014/0
5/1/2017	24244	NUEVO?
9/3/2017	24789	12
23/5/2017	25612	014/0
10/5/2017	25390	443
6/9/2017	27914	46
3/11/2017	28943	471
13/4/2018	30628.2	106

Conclusiones

- El ribotipo **014/0** se detectó en 4 ocasiones en un período de 20 meses.
- No se detectaron ribotipos relacionados a hipervirulencia.
- Alto impacto en la vigilancia epidemiológica de Cd.
- ¿Imprescindible cultivar?

A microscopic image showing a dense population of pink-stained, rod-shaped bacteria. The bacteria are distributed across the entire frame, with a higher concentration in the lower half. A semi-transparent blue rectangular box with rounded corners is centered in the upper half of the image, containing the text "GRACIAS!!!!" in white, bold, sans-serif capital letters.

GRACIAS!!!!