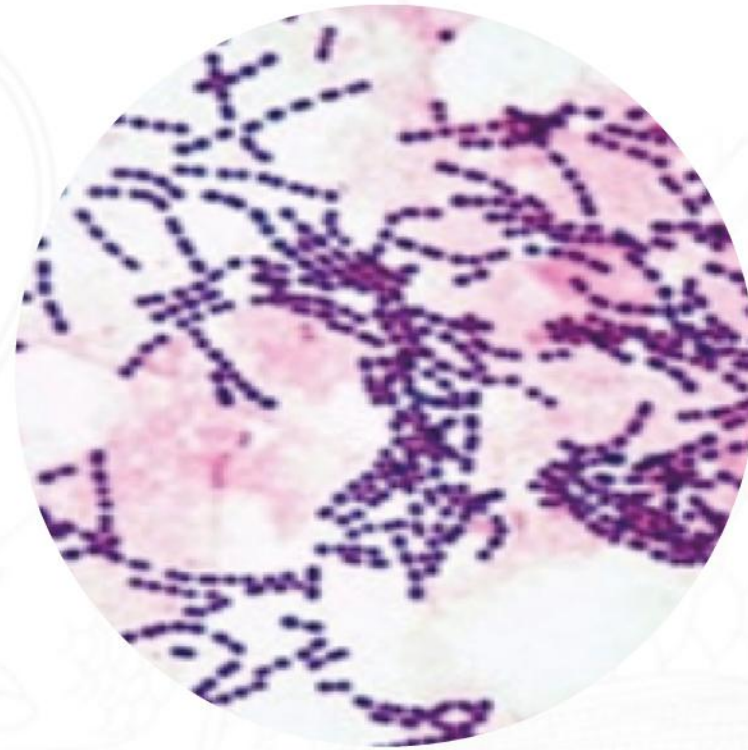




Importancia de los aislados
de **STREPTOCOCCUS**
AGALACTIAE
en el desarrollo de una vacuna

Streptococcus agalactiae

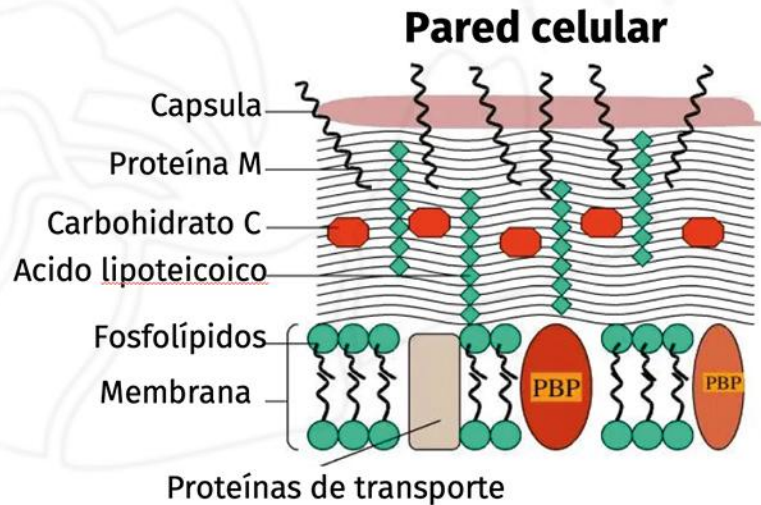


- Bacterias esféricas Gram positivas pertenecientes a la familia *Streptococcaceae*.
- Forman cadenas de 2 o más bacterias.
- No móviles ni formadoras de esporas.
- Catalasa negativo, oxidasa negativo y anaerobio facultativo.
- Muchos son patógenos de seres humanos y animales.

Streptococcus agalactiae o EGB



Lancefield: Clasifica grupos séricos por diferencias antigénicas de un polisacárido de composición variable (**Carbohidrato C**) presente en la pared de la bacteria.



GRUPOS

Clasificación Lancefield



Ramnosa
N-acetil-glucosamina

S. pyogenes



Ramnosa
glucosamina

S. agalactiae



Ramnosa N-acetil-
galactosamina

S. dysagalactiae

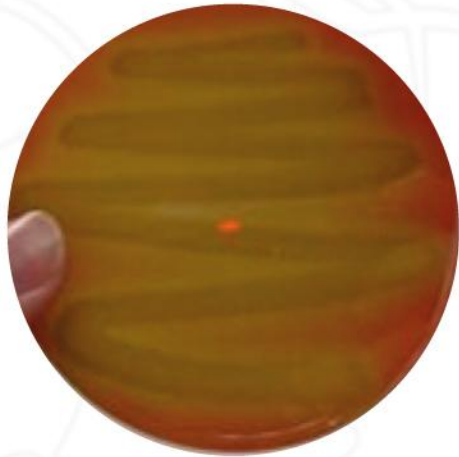


Acido glicerol
teicoico

S. bovis



Clasificación de *S. agalactiae* por patrones hemolíticos



α HEMOLÍTICAS
(hemólisis parcial)

S. pneumoniae



β HEMOLÍTICAS
(hemólisis completa)

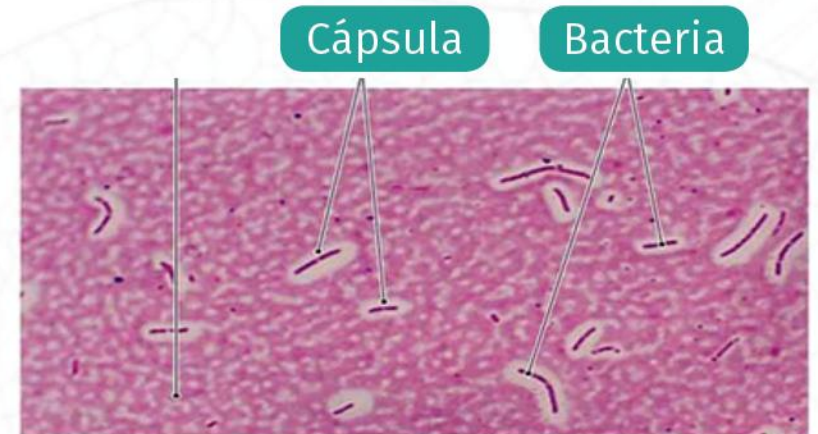
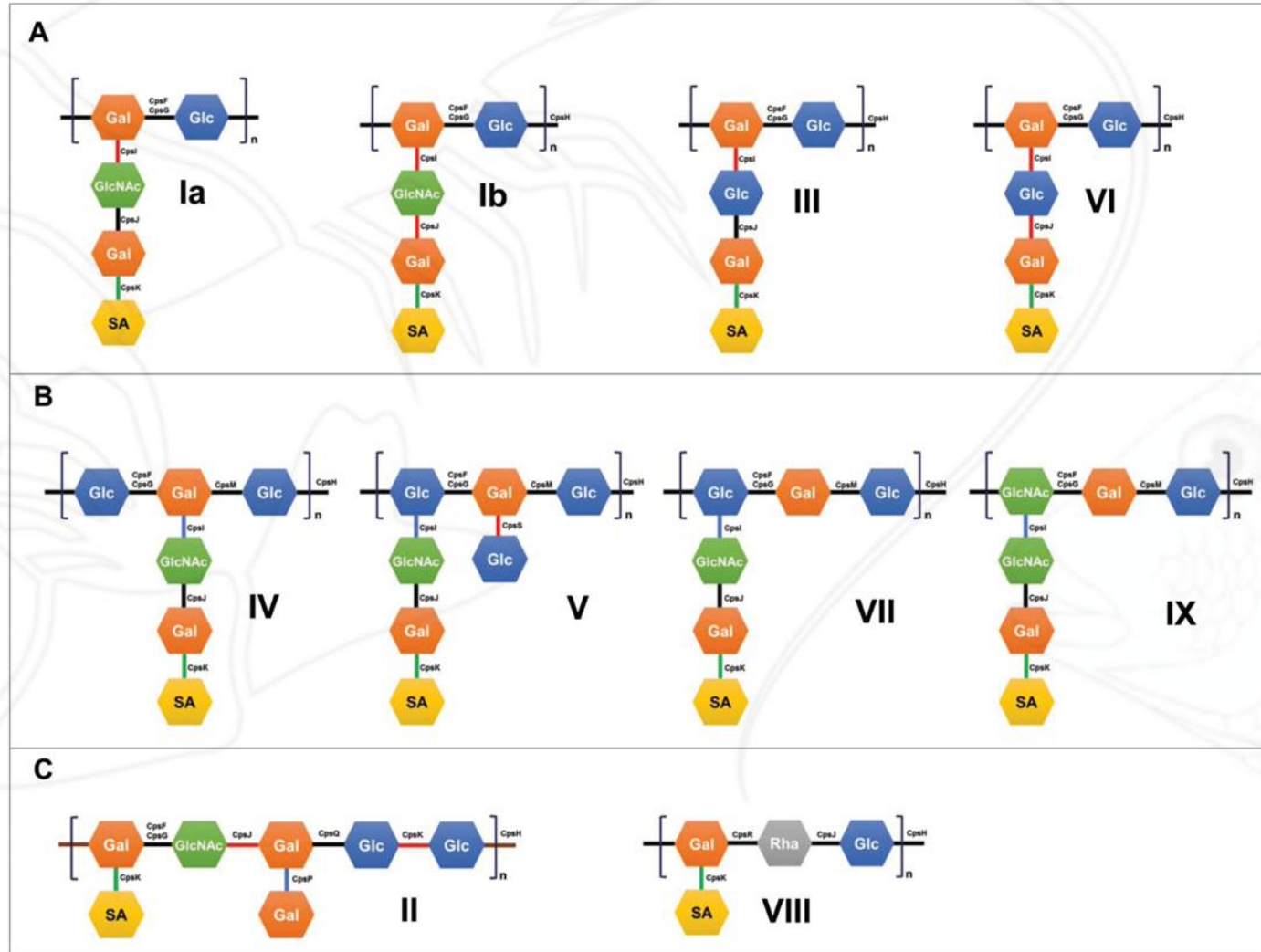
S. agalactiae
S. pyogenes
S. dysgalactiae
S. iniae



γ HEMOLÍTICAS
(ausencia de hémolisis)

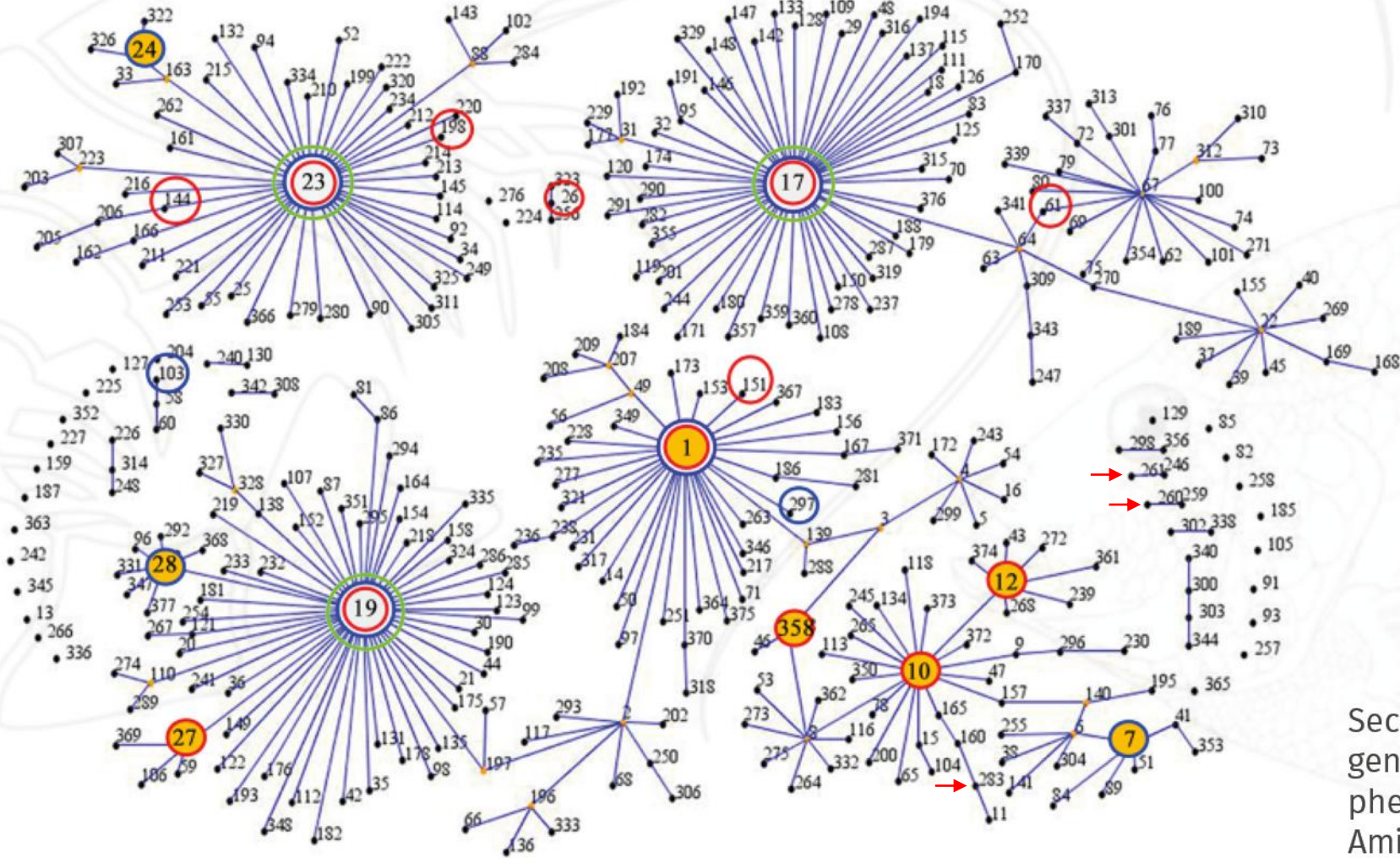
Enterococcus

Diversidad serotípica de *S. agalactiae*



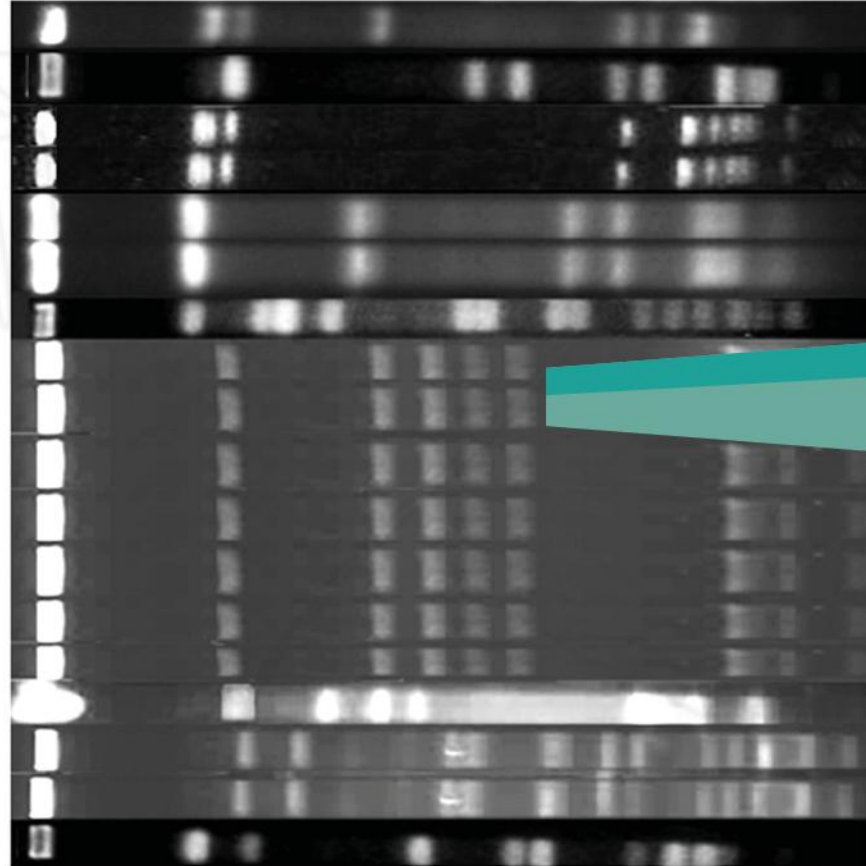
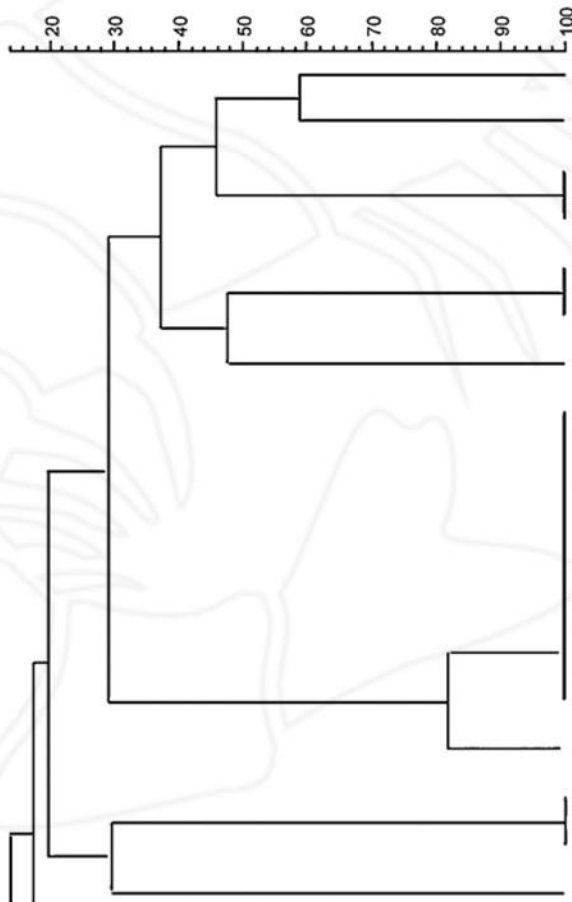
EGB está rodeado por una cápsula compuesta de polisacáridos ricos en ácido siálico (principal factor de virulencia), clasificándola en 10 serotipos (Ia, Ib, II-IX).

Diversidad genética de *S. agalactiae* por MLST



Secuenciación de 7 “housekeeping genes”: adhP: Alcohol dehydrogenase; pheS; Phenylalanyl tRNA synthetase; atr: Amino acid transporter, glnA: Glutamine synthetase, sdhA: Serine dehydratase, glcK: Glucose kinase, Tkt: Transketolase

Diversidad genética de *S. agalactiae* por PFGE



Tipo PFGE

- A I
- B J
- C K
- D L
- E M
- F N
- G R
- H S

Especies afectadas por *S. agalactiae*



Patógeno más prevalente en el cultivo de Tilapia (Ia, Ib, II, III y IX)

Distribución mundial de *S. agalactiae*



6º

TAILANDIA

2019 | 250 mil
2018 | 325 mil
2017 | 300 mil

3º

EGIPTO

2019 | 900 mil
2018 | 860 mil
2017 | 800 mil

CHINA

2019 | 1,93 milhão
2018 | 1,86 milhão
2017 | 1,80 milhão

1º

INDONÉSIA

2019 | 1,35 milhão
2018 | 1,25 milhão
2017 | 1,10 milhão

2º

4º

BRASIL

2019 | 450 mil
2018 | 400 mil
2017 | 375 mil

5º

FILIPINAS

2019 | 350 mil
2018 | 330 mil
2017 | 312 mil

7º

BANGLADESH

2019 | 250 mil
2018 | 220 mil
2017 | 200 mil

VIETNAM

2019 | 220 mil
2018 | 200 mil
2017 | 188 mil

8º

★ *S. agalactiae*

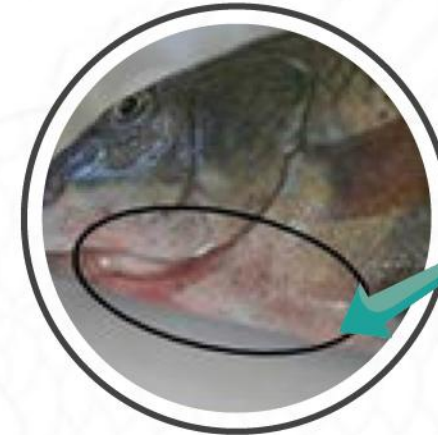
Streptococcus agalactiae en tilapia



Causa
septicemia y
meningoencefalitis



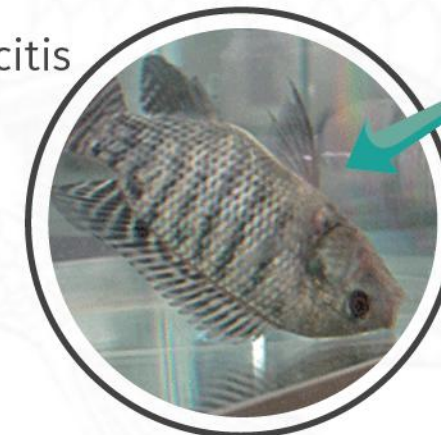
Exoftalmia



Hemorragia
externa

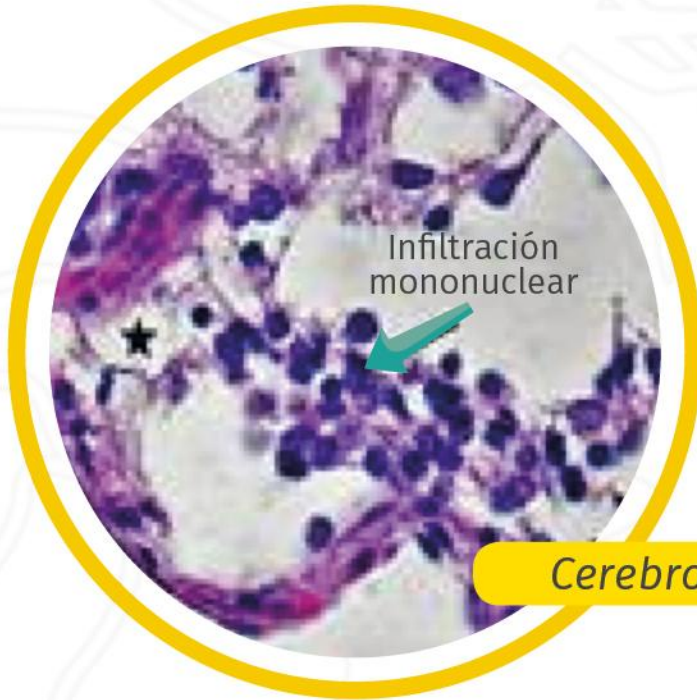


Ascitis



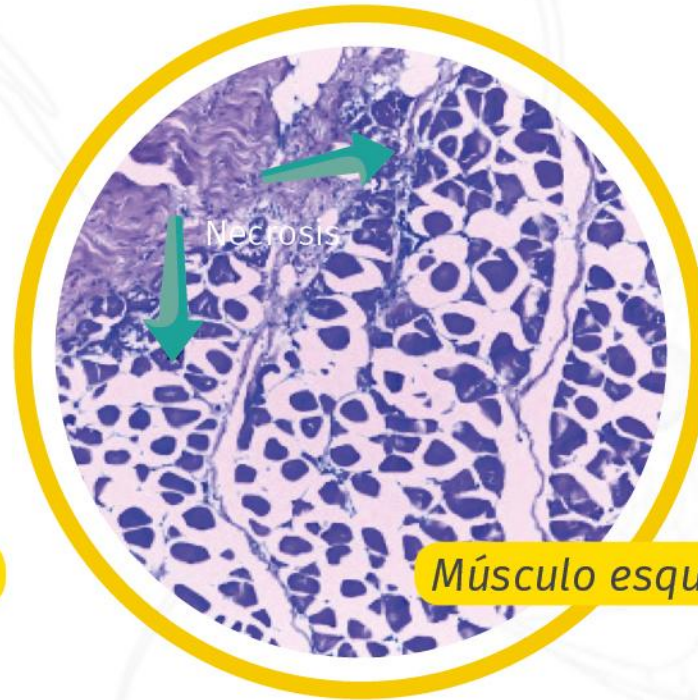
Nado errático
y letargo

Infección de *S. agalactiae* a nivel microscópico



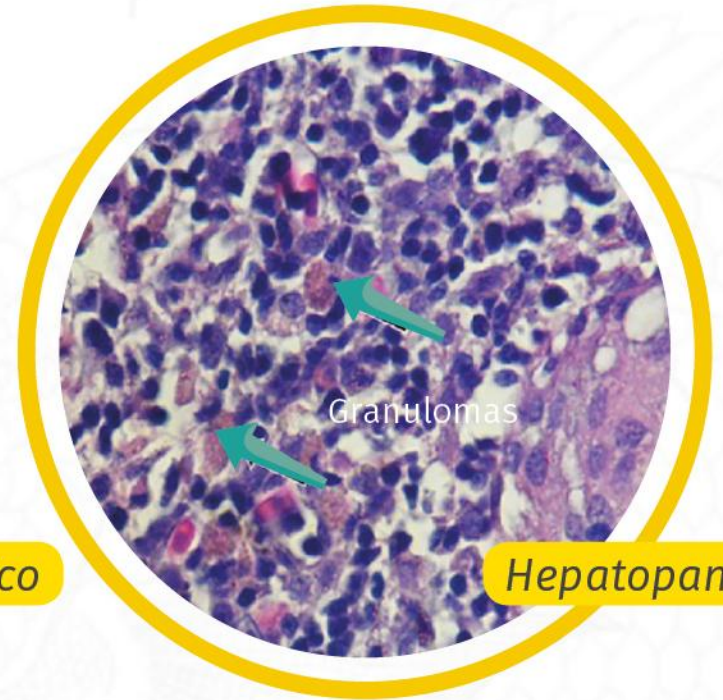
Infiltración mononuclear

Cerebro



Necrosis

Músculo esquelético



Granulomas

Hepatopancreas

Diversidad de *S. agalactiae* en Latinoamérica



Serotipos

Ia
Ib
III

Genotipos

MLTS

ST103
ST260
ST283
ST552
ST553
ST927
Otros

Genotipos PFGE

A1
A2
B
C
E

Control y Tratamiento de *S. agalactiae*



DESINFECTANTES

Formalina
Sulfato de cobre

- Efectivo sólo al inicio de la infección

ANTIBIÓTICOS

Florfenicol
Oxitetraciclina
Gentamicina
Eritromicina
Otros

- Administrar previo a la aparición de signología clínica
- Presencia de cepas resistentes
- Ausencia de apetito en peces enfermos

ESTRATEGIAS AMBIENTALES

↓ Densidad
↓ Temperatura
Mejorar calidad agua

- Seguimiento diario de las condiciones de cultivo

VACUNAS

- Estado inmunológico
- Diversidad de aislados



Desarrollo de una
vacuna para el control de

**STREPTOCOCCUS
AGALACTIAE**

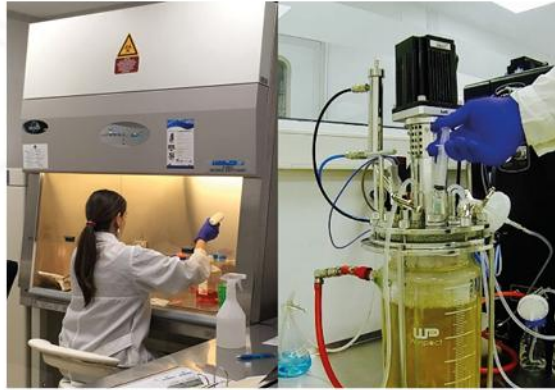
Equipo de Desarrollo



FAV Veterinary
Pharmacology



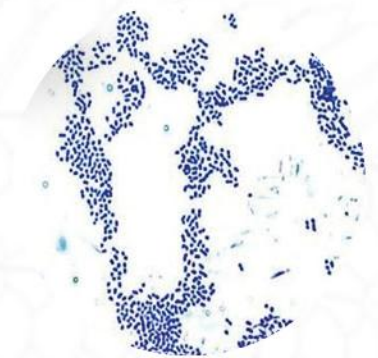
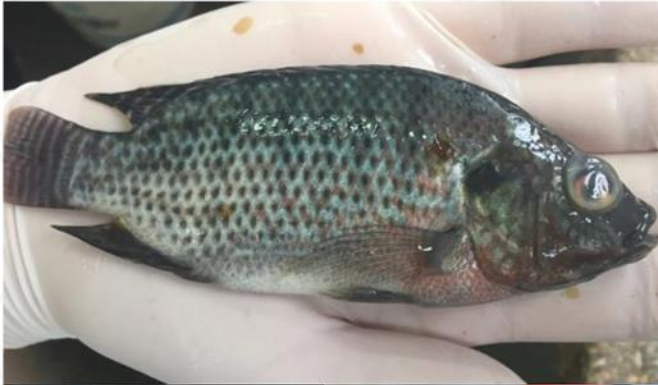
UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA



Aislamiento de *S. agalactiae*



Aislamiento de *S. agalactiae*



S. agalactiae o grupo B
Serotipo Ib / no hemolítica

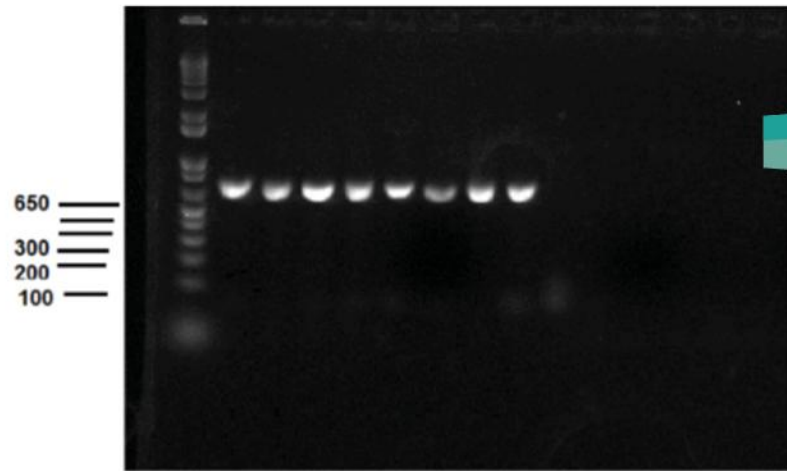
Caracterización de genes de virulencia en los aislados de *S. agalactiae*



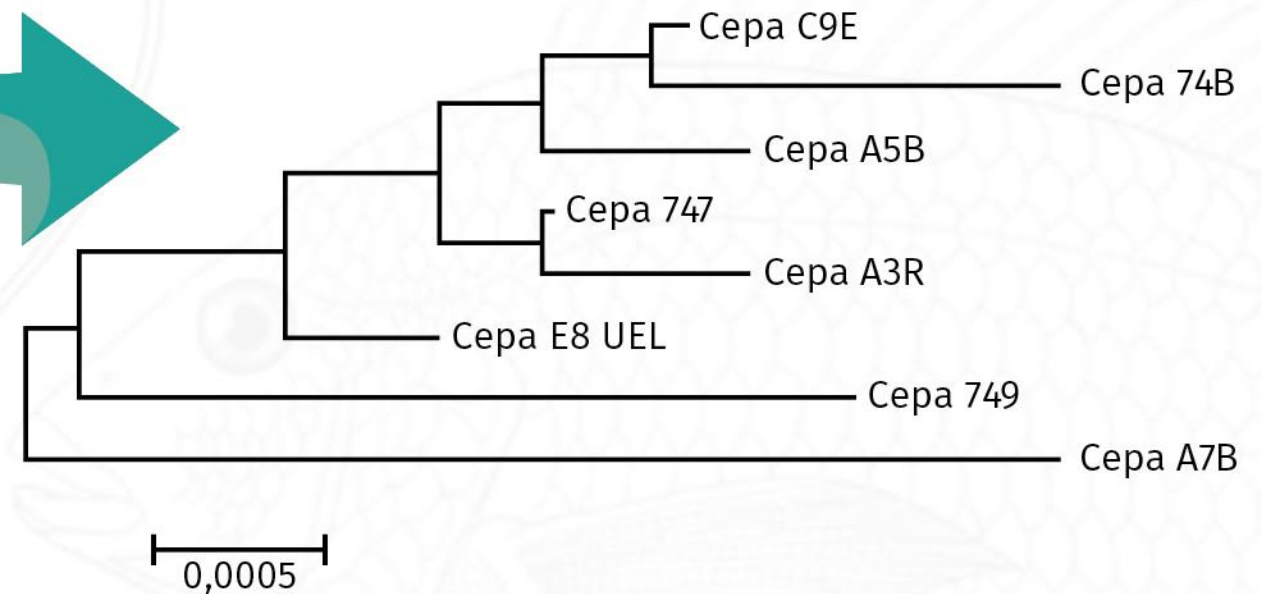
PERFILES	1	2	3	4	5	6
<u>cylE</u>	-	-	-	-	-	-
<u>fbsB</u>	+	+	-	+	+	-
<u>GBS</u>	+	-	-	+	-	+
<u>fbsA</u>	+	-	-	-	+	+
<u>iagA</u>	+	+	+	+	+	+
<u>cfb</u>	+	-	-	+	+	+
<u>lmb</u>	-	-	-	-	-	-
<u>hylB</u>	+	+	+	+	+	+

cylE: Beta hemolisina/cytolysina; **fbsB:** Fibrinogen-binding protein B; **GBS:** Invasion associated gene; **FbsA:** Fibrinogen-binding protein A; **iagA:** Invasion associated gene; **cfb:** CAMP Factornogen-binding protein B; **LMB:** Laminin-Binding protein; **HyLB:** Hyaluronate lyase

Análisis de diversidad genética de los aislados de *S. agalactiae*



Gel electroforesis gene *adhP*



Se analizaron 7 “housekeeping genes”

(*adhP*: alcohol dehydrogenase; *pheS*: phenylalanyl transfer RNA synthetase; *atr*: amino acid transporter protein; *glnA*: glutamine synthetase; *sdhA*: l-serine dehydratase; *glcK*: glucose kinase; and *tkt*: transketolase).

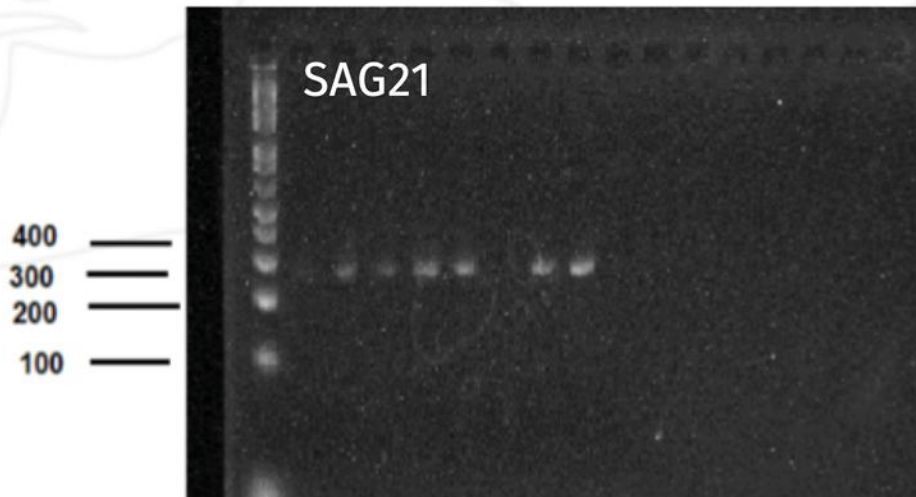
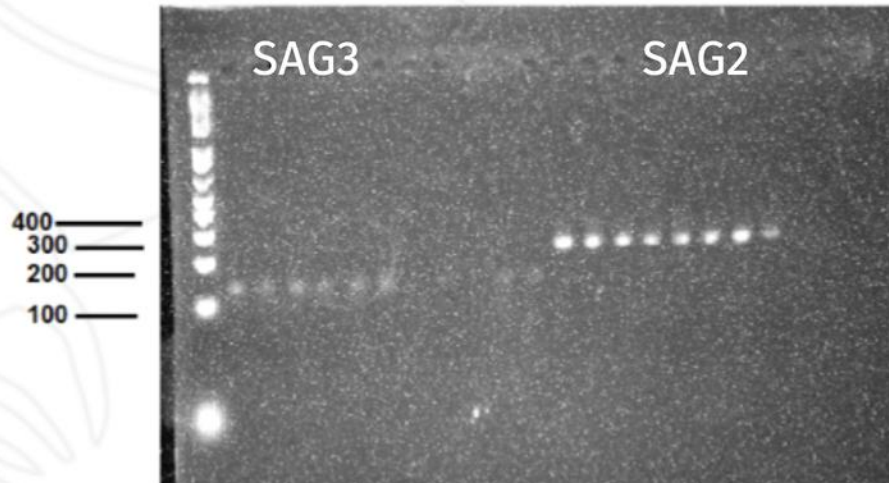
Análisis de diversidad genética de los aislados de *S. agalactiae*



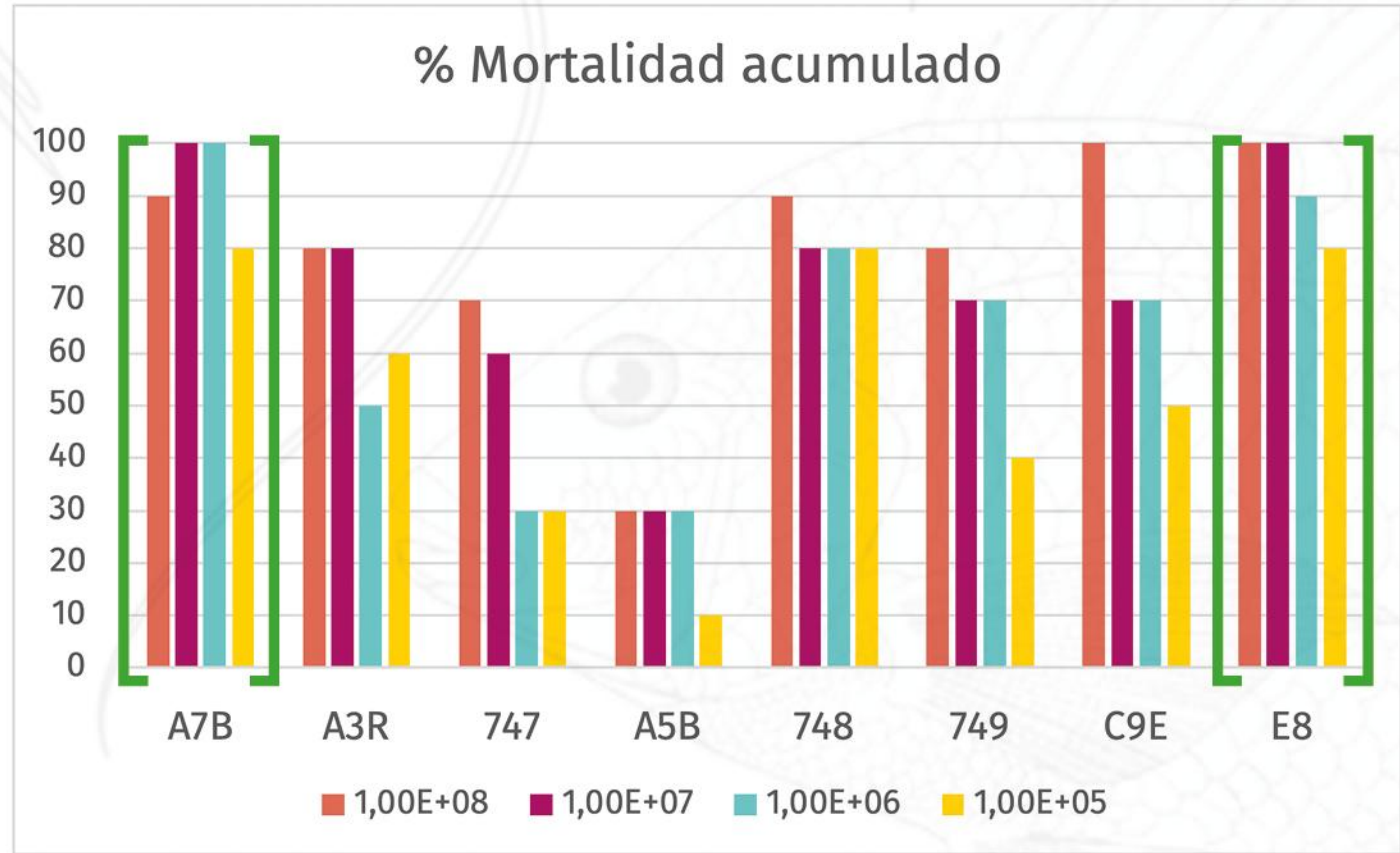
Electroforesis PCR

MLVA

(Multiple-Locus Variable number tandem repeat Analysis)



Estudios de Patogenicidad con los aislados de *S. agalatiiae*



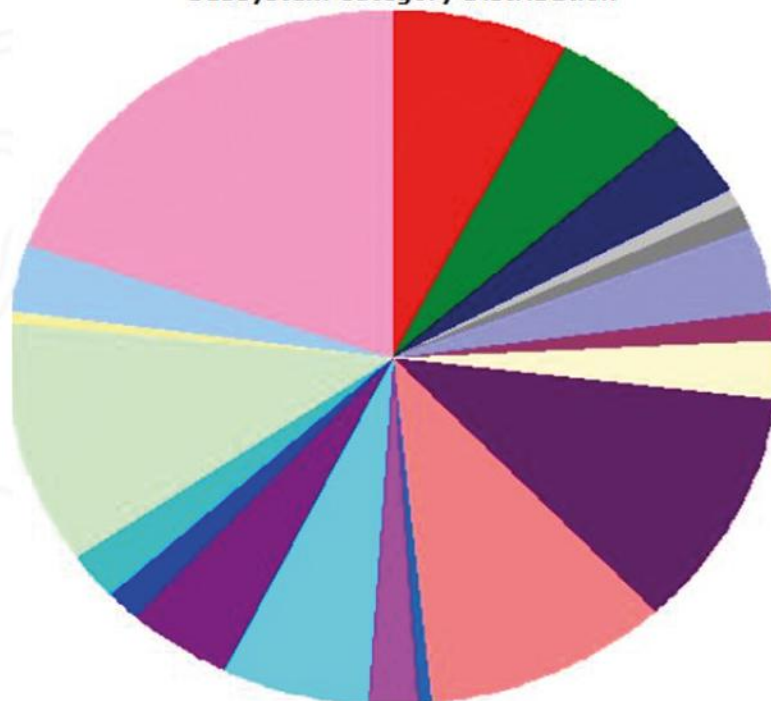
Secuenciación del genoma de los *S. agalactiae* seleccionados



Aislado E8

Aislado A7B

Subsystem Category Distribution



Subsystem Feature Counts

☐	Cofactors, Vitamins, Prosthetic Groups, Pigments (84)
☐	Cell Wall and Capsule (63)
☐	Virulence, Disease and Defense (38)
☐	Potassium metabolism (3)
☐	Photosynthesis (0)
☐	Miscellaneous (11)
☐	Phages, Prophages, Transposable elements, Plasmids (10)
☐	Membrane Transport (42)
☐	Iron acquisition and metabolism (15)
☐	RNA Metabolism (32)
☐	Nucleosides and Nucleotides (120)
☐	Protein Metabolism (113)
☐	Cell Division and Cell Cycle (4)
☐	Motility and Chemotaxis (0)
☐	Regulation and Cell signaling (25)
☐	Secondary Metabolism (0)
☐	DNA Metabolism (68)
☐	Fatty Acids, Lipids, and Isoprenoids (47)
☐	Nitrogen Metabolism (0)
☐	Dormancy and Sporulation (1)
☐	Respiration (17)
☐	Stress Response (23)
☐	Metabolism of Aromatic Compounds (2)
☐	Amino Acids and Derivatives (124)
☐	Sulfur Metabolism (5)
☐	Phosphorus Metabolism (33)
☐	Carbohydrates (208)

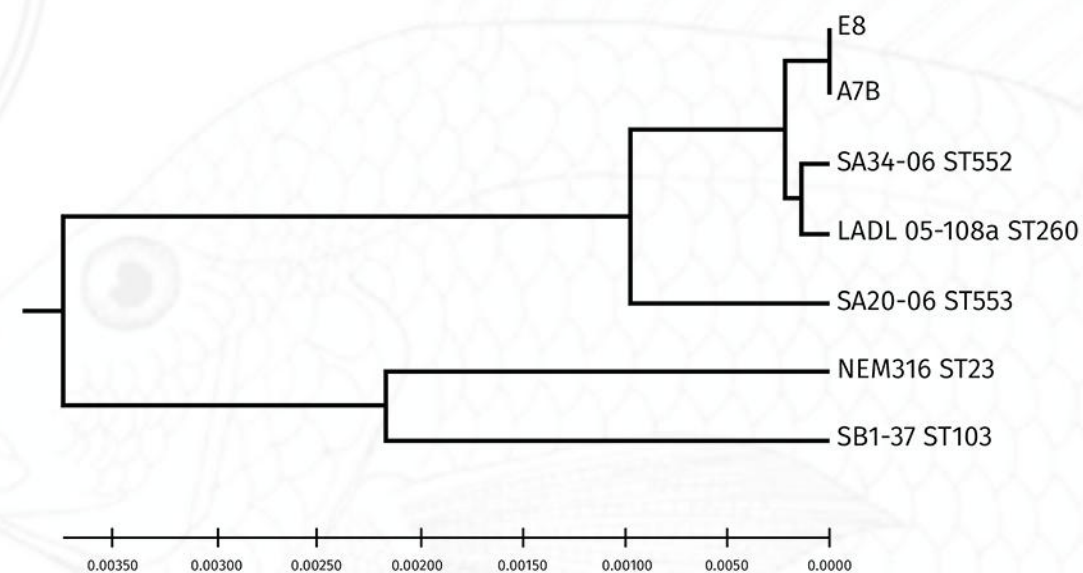
Subsystem Feature Counts

☐	Cofactors, Vitamins, Prosthetic Groups, Pigments (84)
☐	Cell Wall and Capsule (62)
☐	Virulence, Disease and Defense (39)
☐	Potassium metabolism (4)
☐	Photosynthesis (0)
☐	Miscellaneous (11)
☐	Phages, Prophages, Transposable elements, Plasmids (10)
☐	Membrane Transport (43)
☐	Iron acquisition and metabolism (15)
☐	RNA Metabolism (32)
☐	Nucleosides and Nucleotides (122)
☐	Protein Metabolism (114)
☐	Cell Division and Cell Cycle (4)
☐	Motility and Chemotaxis (0)
☐	Regulation and Cell signaling (25)
☐	Secondary Metabolism (0)
☐	DNA Metabolism (68)
☐	Fatty Acids, Lipids, and Isoprenoids (48)
☐	Nitrogen Metabolism (0)
☐	Dormancy and Sporulation (1)
☐	Respiration (17)
☐	Stress Response (21)
☐	Metabolism of Aromatic Compounds (2)
☐	Amino Acids and Derivatives (124)
☐	Sulfur Metabolism (5)
☐	Phosphorus Metabolism (33)
☐	Carbohydrates (208)

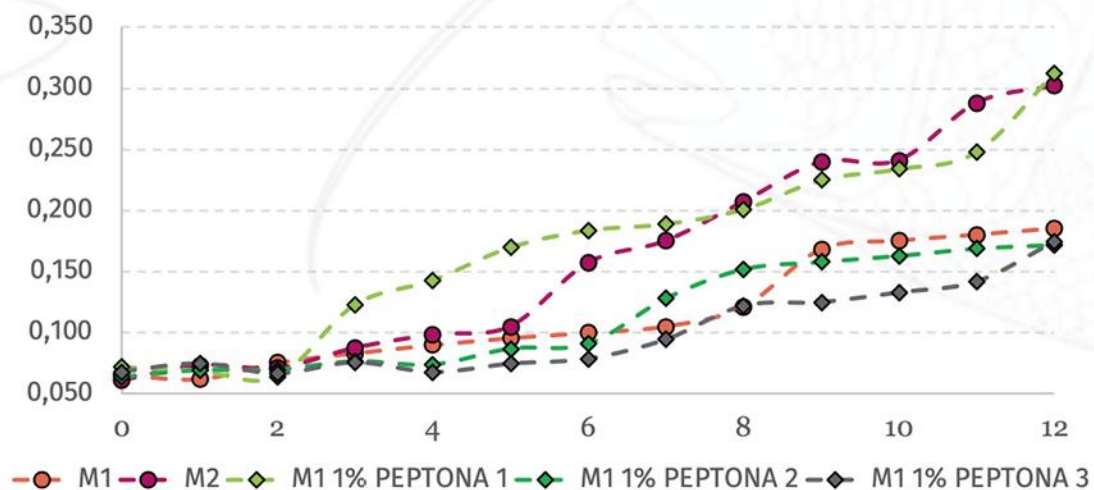
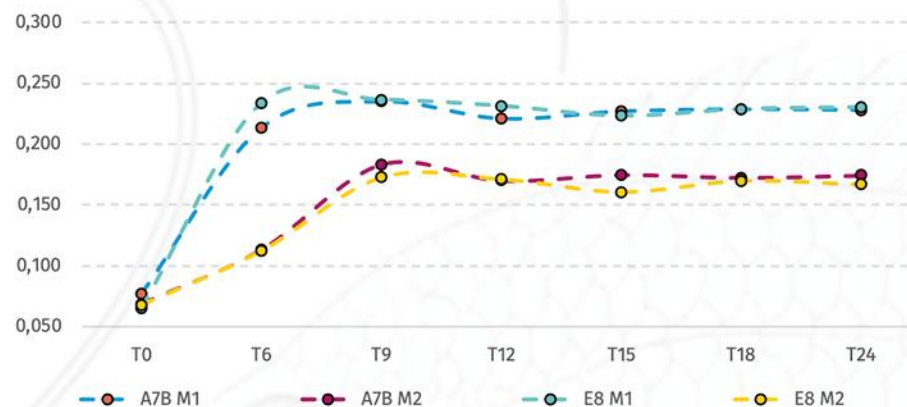
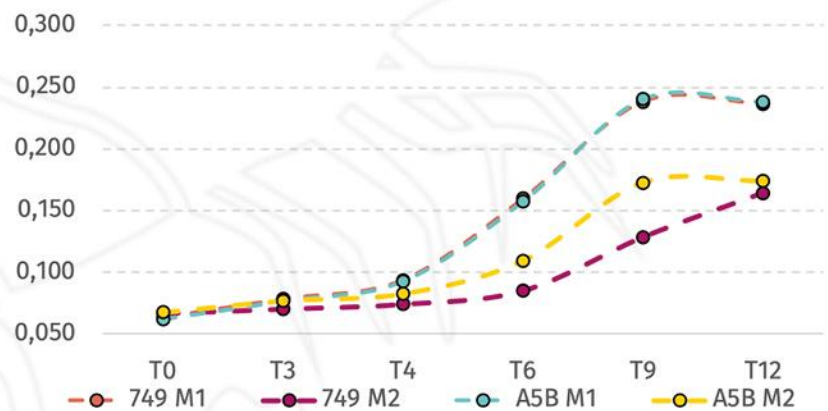
Secuenciación del genoma de los *S. agalactiae* seleccionados



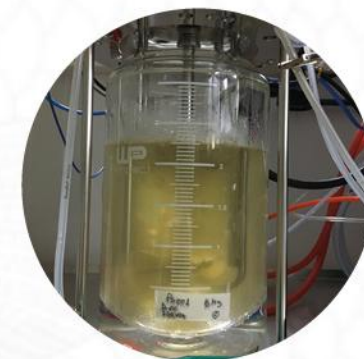
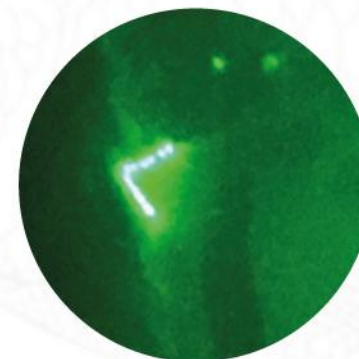
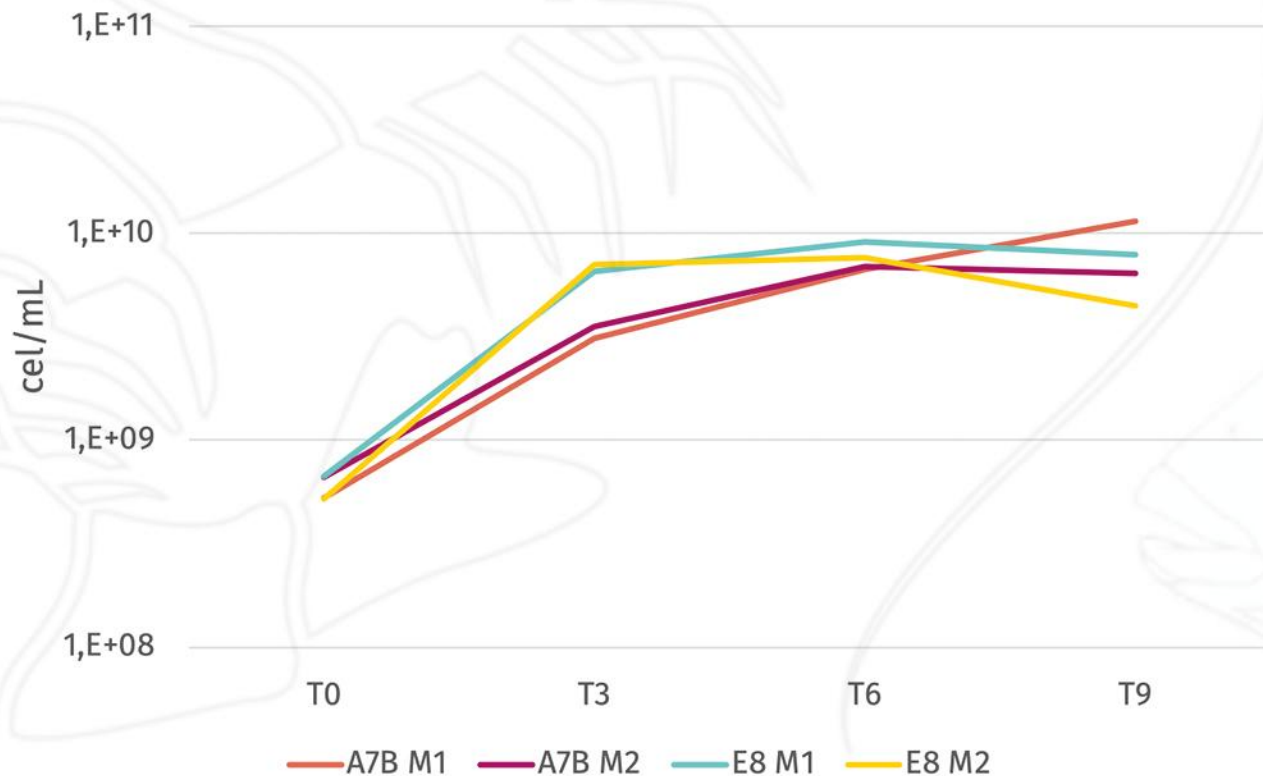
Aspectos genómicos	Aislados de <i>S. agalactiae</i>	
	E8	A7B
Tamaño	2.084.016	2.083.905
G+C (%)	35	35
Número de contigs	114	119
Número de subsistemas	245	245
Número de secuencias codificantes	2.232	2.240
Número de genes de RNA Ribossomal e transportador	58	57



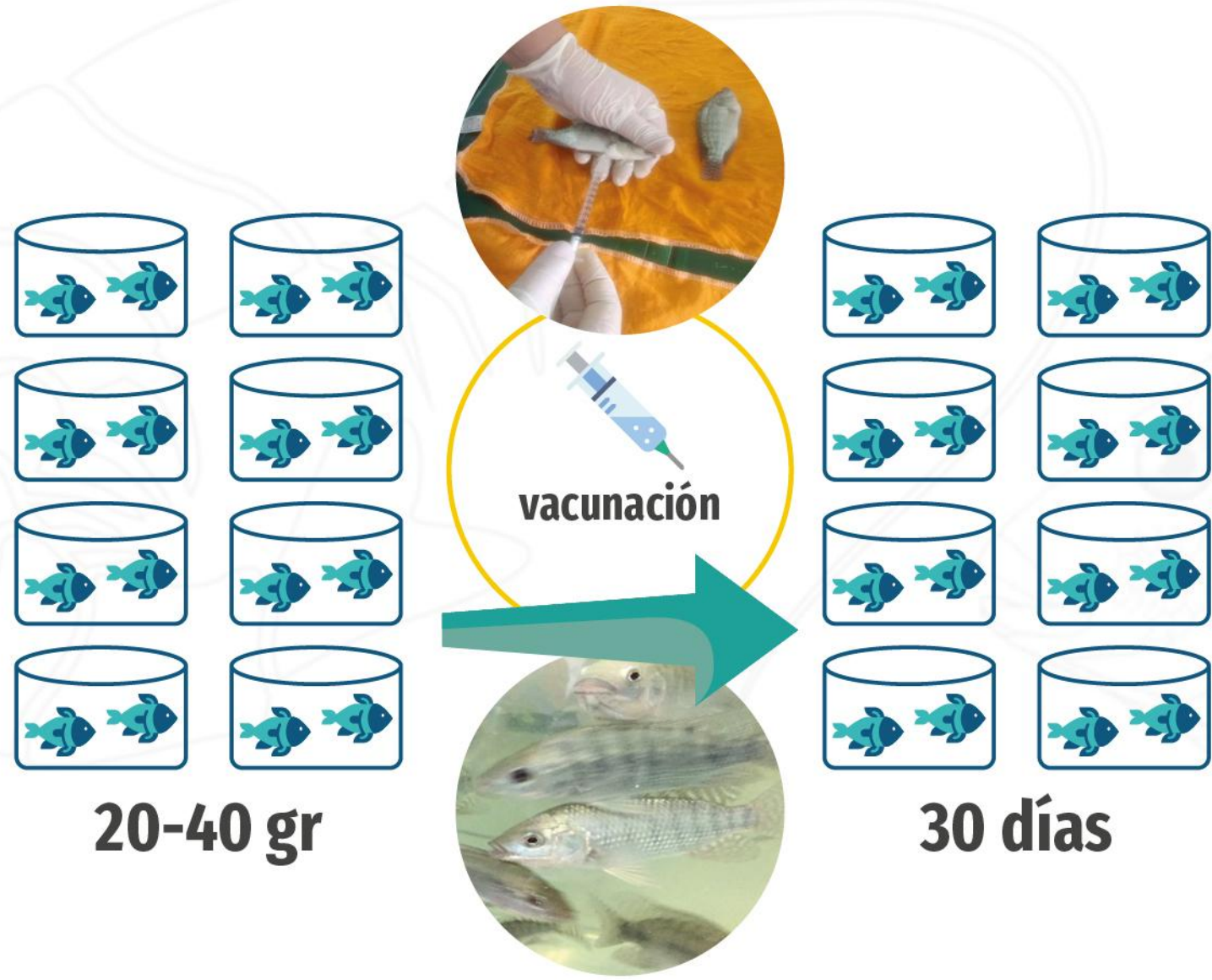
Cultivo de *S. agalactiae* bajo distintas condiciones



Cultivo de *S. agalactiae*



Evaluación de prototipos

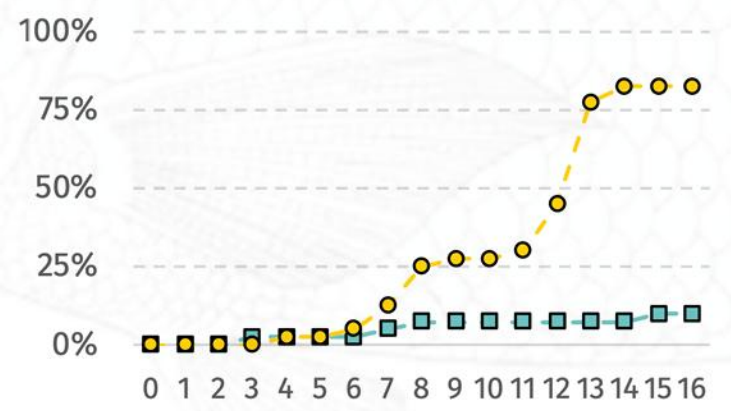


LD50-80

Desafío



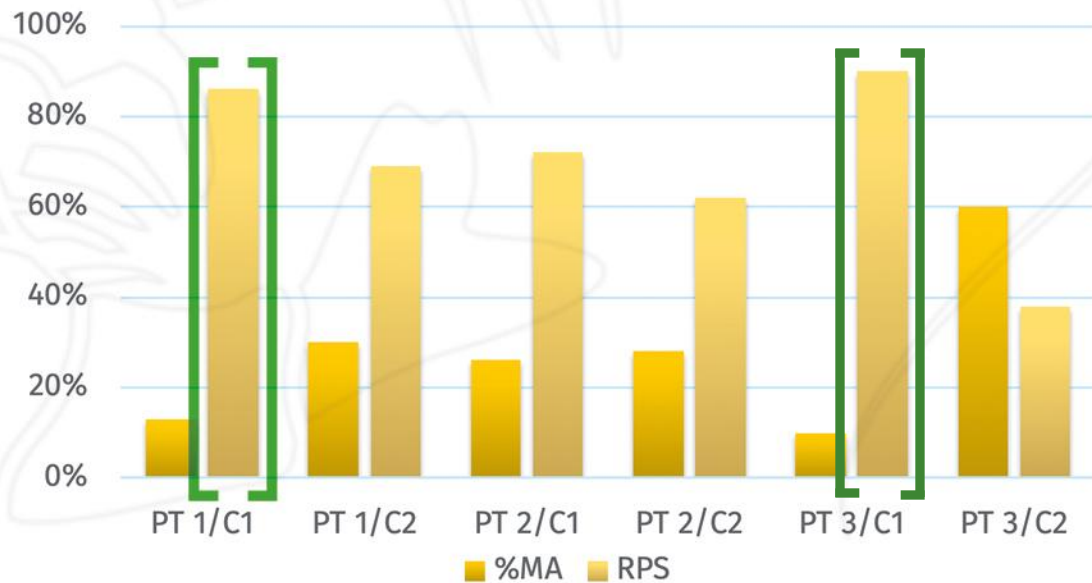
Mortalidad acumulada



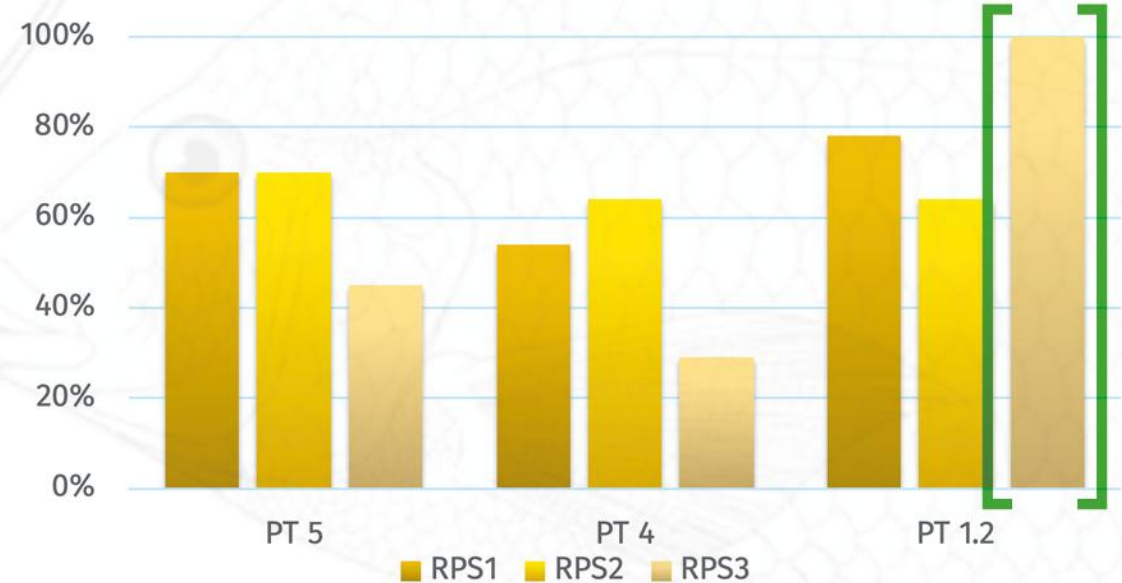
Estudios de eficacia



% Mortalidad y RPS80 de prototipos experimentales (PT)



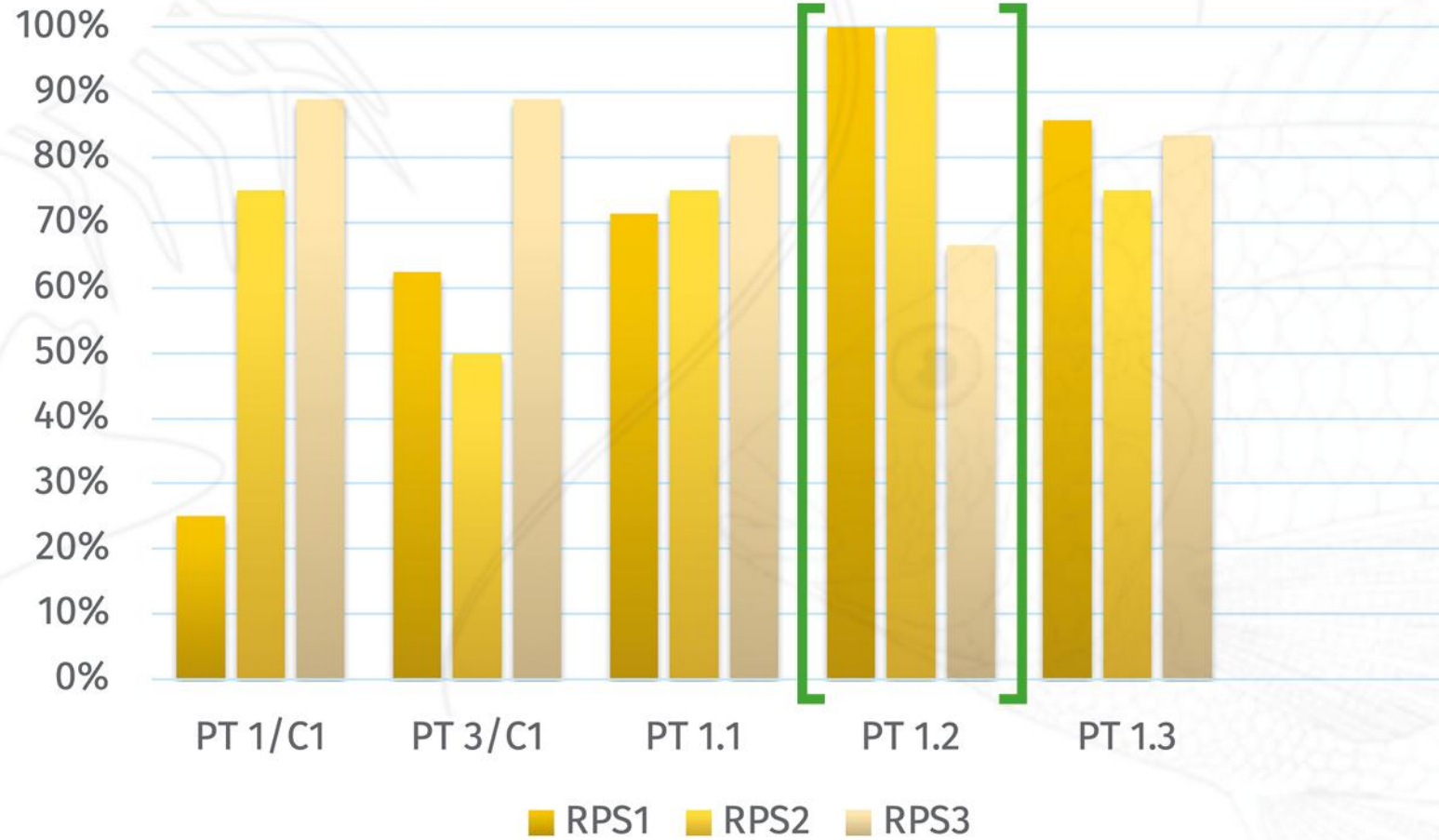
RPS80 de prototipos experimentales (PT)



Estudios de eficacia



RPS80 de prototipos experimentales



Estudios de eficacia

Fishvac[®] TM

Vacuna inyectable contra la estreptococcosis causa por *Streptococcus agalactiae*.

Streptococcus agalactiae A7B...1 x 10⁸ bact/ml

Streptococcus agalactiae E8.....1 x 10⁸ bact/ml

Adyuvante oleoso

Microdosis de 0,05 mL



RPS80



Estudios de seguridad



Estudios de seguridad con el doble de la dosis

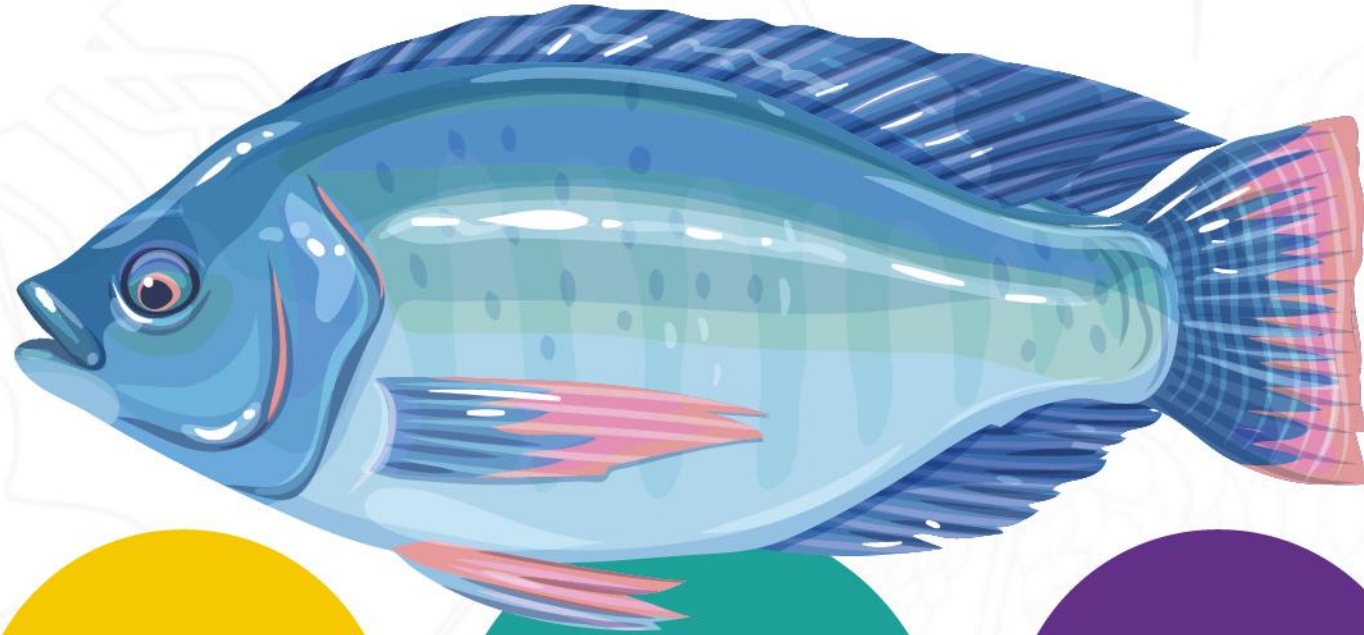
La vacuna no afectó el crecimiento de los peces.
No se registraron mortalidades asociadas a la vacuna.
No se registraron efectos secundarios asociados a la vacuna.



Estudios en campo



Manejo integrado



Buen manejo sanitario



Antibióticos



Buenas condiciones productivas



Inmunoestimulantes



Vacunas



Agradecimientos



Equipo de I+D, FAV

Pedro Ilardi
Victor Reyes
Catalina Barros
Sara Valdés
Javier Rivera
Enrique Madrid
María Paz Camposano



Labovet

Rose Nunes
Angela de Oliveira
Priscila Falcao
Fernando Falcao



Universidad de Londrina

Lucienne Garcia Pretto-Giordano

Departamento de Medicina Veterinaria Preventiva
Laboratorio de Microbiología

Laurival Antônio Vilas-Boas

Departamento de Biología general
Laboratorio de genética



Johanna Gajardo

Johanna.Gajardo@Abbott.com