



INFORME BREVE

Genotipificación de aislamientos clínicos del complejo *Cryptococcus neoformans/Cryptococcus gattii* obtenidos en el Hospital «Dr. Julio C. Perrando», de la ciudad de Resistencia (Chaco, Argentina)

Maria E. Cattana^{a,*}, Maria F. Tracogna^b, Mariana S. Fernández^a, Mariana C. Carol Rey^b, Maria A. Sosa^a y Gustavo E. Giusiano^a

^aDepartamento Micología, Instituto de Medicina Regional, Universidad Nacional del Nordeste, Resistencia, Chaco, Argentina

^bServicio de Microbiología, Hospital «Dr. Julio C. Perrando», Resistencia, Chaco, Argentina

Recibido el 16 de abril de 2013; aceptado el 20 de mayo de 2013

PALABRAS CLAVE

Genotipos;
Criptococosis;
Epidemiología

Resumen

La criptococosis es una infección fúngica causada por levaduras del género *Cryptococcus*, particularmente las del complejo *Cryptococcus neoformans/Cryptococcus gattii*. El conocimiento sobre la casuística de la criptococosis en el nordeste argentino es exiguo y no se tiene información sobre los tipos moleculares circulantes. El objetivo de este estudio fue realizar la caracterización genética de los aislamientos pertenecientes al complejo *C. neoformans/C. gattii* obtenidos en el Hospital «Dr. Julio C. Perrando» de la ciudad de Resistencia (Chaco, Argentina), con el fin de determinar especie, variedad y genotipo. Durante dos años y un mes se estudiaron 26 aislamientos clínicos. Mediante métodos convencionales y moleculares, un aislamiento fue identificado como *C. gattii* genotipo VGI y los 25 restantes como *C. neoformans* var. *grubii*, 23 de los cuales correspondieron al genotipo VNI y dos al genotipo VNII. Estos datos son una contribución al conocimiento de la epidemiología de la criptococosis en la Argentina y el primer informe sobre genotipos del complejo *C. neoformans/C. gattii* de origen clínico en el nordeste argentino.

© 2013 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: memiliacattana@yahoo.com.ar (M.E. Cattana).

KEYWORDS

Genotype;
Cryptococcosis;
Epidemiology

Genotyping of *Cryptococcus neoformans*/*Cryptococcus gattii* complex clinical isolates from Hospital "Dr. Julio C. Perrando", Resistencia city (Chaco, Argentina)

Abstract

Cryptococcosis is a fungal infection caused by yeast species of *Cryptococcus* genus, particularly *Cryptococcus neoformans*/*Cryptococcus gattii* species complex. The knowledge of the cryptococcosis casuistic in northeastern Argentina is scarce and there is no information about the molecular types circulating in this area. The aim of this study was to genotyping *C. neoformans*/*C. gattii* complex clinical isolates obtained at Hospital "Dr. Julio C. Perrando", Resistencia city (Chaco, Argentina), in order to determine species, variety and molecular type. During two years and one month 26 clinical isolates were studied. Using conventional and molecular methods one isolate was identified as *C. gattii* VGI type, and 25 isolates as *C. neoformans* var. *grubii*; 23 of these belonged to VNI type and two belonged to VNII type. This data is a contribution to the knowledge of cryptococcosis epidemiology in Argentina and the first report about *C. neoformans*/*C. gattii* complex molecular types from clinical isolates in northeastern Argentina.

© 2013 Asociación Argentina de Microbiología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

La criptococosis es una enfermedad fúngica oportunista causada por levaduras capsuladas del género *Cryptococcus*, particularmente las del complejo *Cryptococcus neoformans*/*Cryptococcus gattii*. En el complejo se incluye a *Cryptococcus neoformans* con sus 2 variedades (*grubii* y *neoformans*) y sus 3 serotipos (A, D y el híbrido AD), y a *C. gattii* con sus 2 serotipos (B y C). Actualmente, con la aplicación de métodos moleculares se reconocen 8 tipos moleculares o genotipos principales de estas especies: tipos VNI y VNII (*C. neoformans* var. *grubii*, serotipo A), tipo VNIII (*C. neoformans* serotipo AD), tipo VNIV (*C. neoformans* var. *neoformans*, serotipo D), y los tipos VGI, VGII, VGIII y VGIV^{9,10} (*C. gattii*, serotipos B y C).

A fines del siglo XX, la incidencia de la criptococosis aumentó drásticamente como consecuencia del incremento de individuos inmunocomprometidos, favorecido por los tratamientos inmunosupresores y por la epidemia de sida. En Argentina la información epidemiológica sobre la criptococosis está basada en comunicaciones aisladas de hospitales que atienden principalmente población HIV positiva, por lo que en general se informa una alta prevalencia de *C. neoformans* var. *grubii*. Hasta el momento, el conocimiento sobre la casuística de la criptococosis en el nordeste argentino es exiguo y no hay información sobre los genotipos circulantes^{8,13}.

El objetivo de este estudio fue realizar la caracterización genética de los aislamientos clínicos pertenecientes al complejo *C. neoformans*/*C. gattii* obtenidos en el Hospital «Dr. Julio C. Perrando» de la ciudad de Resistencia (provincia del Chaco, Argentina), con el fin de determinar especie, variedad y genotipo.

Entre junio de 2010 y junio de 2012, se estudiaron levaduras del complejo *C. neoformans*/*C. gattii* aisladas en el Servicio de Microbiología del Hospital Regional «Dr. Julio C. Perrando». Los aislamientos fueron recuperados de pacientes que en ese momento se encontraban internados en distintas salas del Hospital, principalmente en Unidad de Terapia Intensiva, Unidad de Aislamiento y Clínica Médica.

Las muestras clínicas de líquido cefalorraquídeo, lavado broncoalveolar, aspirado traqueal, hemocultivo y esputo fueron procesadas en el Servicio de Microbiología de dicho hospital.

El análisis micológico de las muestras clínicas incluyó examen directo en fresco y con tinta china, coloraciones de Gram y coloración de May Grünwald-Giemsa. Los materiales biológicos fueron sembrados en medios para estudio bacteriológico y en 4 tubos de agar Sabouraud adicionado con cloranfenicol 500 mg/l, e incubados a 28 °C y 35 °C.

Todas las levaduras que desarrollaron en agar Sabouraud y en los medios para bacterias fueron identificadas utilizando la prueba de urea de Christensen, observación de la micromorfología en agar-arroz y el sistema comercial API ID32C (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Francia). Posteriormente, todos los aislamientos identificados dentro del complejo *C. neoformans*/*C. gattii* fueron remitidos al Departamento de Micología del Instituto de Medicina Regional de la Universidad Nacional del Nordeste, donde se realizaron subcultivos en medios de Pal¹⁴ y en canavanina-glicina-azul de bromotimol⁶ (CGB) para su identificación fenotípica.

La identificación genotípica se realizó mediante una PCR-RFLP del gen *URA5*. Para la extracción de ADN se aplicó la metodología descrita previamente por Bosco Borgeat *et al.*². La reacción de PCR se llevó a cabo según lo descrito por Meyer *et al.*⁹; se sometieron los productos de la PCR a una doble digestión enzimática con *Sau96I* y *HhaI*. Los fragmentos de restricción fueron separados por electroforesis en gel de agarosa al 3 % a 100 V durante 5 horas. Los patrones de RFLP fueron asignados por comparación con los patrones obtenidos de cepas de referencia (de *C. neoformans* var. *grubii*: CBS 10085 VNI y CBS 10084 VNII; de *C. neoformans* híbrido AD: CBS 10080 VNIII; de *C. neoformans* var. *neoformans*: CBS 10079 VNIV; y de *C. gattii*: CBS 10078 VGI; CBS 10082 VGII; CBS 10081 VGIII y CBS 10101 VGIV).

Durante los 25 meses de trabajo se estudiaron 26 aislamientos provenientes de igual número de pacientes adul-

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/4370486>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/4370486>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)