

Inmunotipificación de cepas de *Gardnerella vaginalis* utilizando anticuerpos IgY.

Madera-Contreras A¹, Solano-Texta R¹, Estrada-Moreno A¹, Vences-Velázquez A¹, Vences-Velázquez G², Cortés-Sarabia K*.

¹Laboratorio de Inmunobiología y Diagnóstico Molecular, ²Laboratorio de Investigación Salud y Ambiente.

Universidad Autónoma de Guerrero. Av. Lázaro Cárdenas S/N, Ciudad Universitaria. Chilpancingo, Gro. *kcortes_sarabia@hotmail.com

Introducción

La Vaginosis Bacteriana (VB) es una disbiosis caracterizada por la reducción en el número de lactobacilos y el crecimiento excesivo de un consorcio polimicrobiano que contiene prioritariamente bacterias anaerobias, entre las que destaca, *Gardnerella vaginalis*. Esta bacteria posee diversos factores de virulencia, los más estudiados son vaginolisina (VLY) y sialidasa (SLD), debido a su papel en el desarrollo de VB. Por otra parte, se ha estudiado la utilidad de anticuerpos producidos en aves en el diagnóstico clínico de procesos infecciosos, entre los que destacan las infecciones por bacterias.

Objetivo

Producir un anticuerpo de tipo IgY a partir de la inmunización de una gallina *Rhode island* con la bacteria *Gardnerella vaginalis* y utilizarlo para la inmunotipificación de cepas de esta bacteria.

Materiales y métodos

Se utilizó una gallina *Rhode Island*, la cual fue inmunizada en ocho ocasiones con la cepa ATCC 14018 de *Gardnerella vaginalis*. La IgY fue extraída a partir de la yema de huevo utilizando el método de Polietilenglicol 6,000, y la respuesta inmune fue monitoreada por ELISA indirecto. Posteriormente, el anticuerpo fue caracterizado mediante inmunoensayos como: *Dot blot*, *Western Blot*, ELISA indirecto e inmunoprecipitación, para finalmente ser utilizado en la inmunotipificación de 63 cepas de *G. vaginalis*.

Resultados

Los anticuerpos IgY fueron obtenidos con el método del Polietilenglicol 6.000, y fueron utilizados para la evaluación de la respuesta inmune por ELISA indirecto (Figura 1).

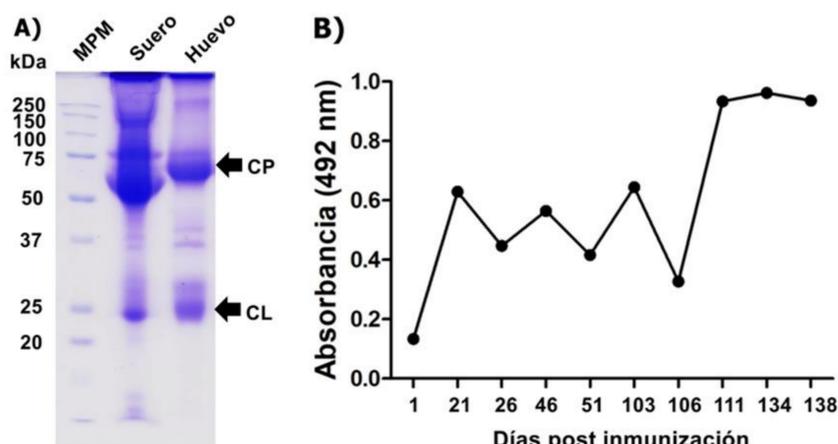


Figura 1. Obtención de la IgY a partir de la yema de huevo. A) Electroforesis de la IgY extraída a partir de la yema de huevo por SDS-PAGE. B) Evaluación de la respuesta inmune de la gallina inmunizada con la cepa ATCC 14018 de *G. vaginalis*.

El anticuerpo IgY anti-*G. vaginalis* obtenido del huevo correspondiente al día 134 fue capaz de reconocer a los diferentes biotipos de la bacteria y proteínas presentes en el sobrenadante de cultivo, cuyos pesos moleculares corresponden a la VLY (56 kDa) y SLD (90 kDa).

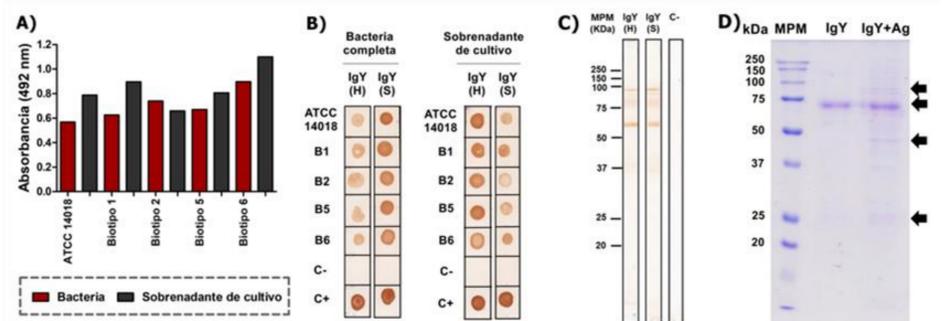


Figura 2. Reconocimiento de la ATCC 14018 y biotipos de *G. vaginalis* por el anticuerpo IgY anti-*G. vaginalis*. A) ELISA indirecto. B) *Dot Blot*. C) *Western Blot* para la detección de *G. vaginalis* por el anticuerpo IgY. D) Técnica de inmunoprecipitación.

Finalmente, se utilizaron 63 cepas de *G. vaginalis* aisladas a partir de muestras de exudados vaginales con y sin diagnóstico de VB. Se observó que el anticuerpo era capaz de reconocer antígenos presentes en la membrana de casi todas las cepas utilizadas, sin embargo, no hay discriminación entre aquellas que presentan VB y pertenecen a la microbiota normal.

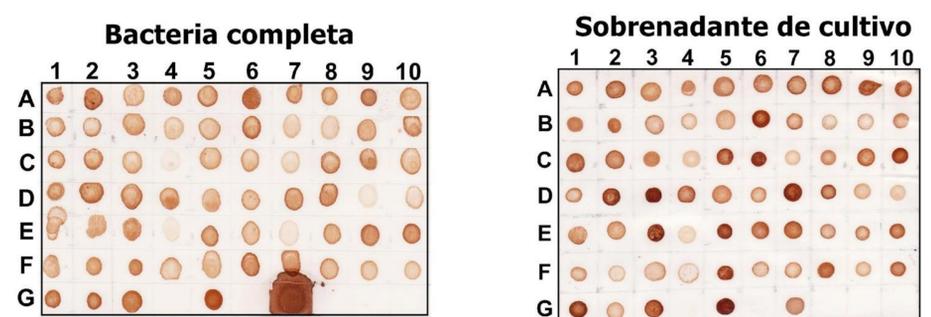


Figura 3. Evaluación del reconocimiento de cepas *G. vaginalis* por el anticuerpo IgY. Aislamientos clínicos de cepas de *G. vaginalis* a partir de exudados vaginales. Técnica: *Dot blot*. Las proteínas fueron precipitadas a partir del sobrenadante de cultivo.

Discusión y conclusión

Se obtuvo un anticuerpo policlonal IgY contra *Gardnerella vaginalis* que mostró una alta capacidad de reconocimiento a los antígenos presentes en la membrana y secretados al medio de cultivo de los diferentes biotipos de la bacteria, así como en aislamientos clínicos y muestras de exudado cervicovaginales.

Referencias

Santos-Fonseca, R., Casado Méndez, P., Méndez Jiménez, O., Martínez Méndez, V., Jiménez Almaguer, D. and Cordoví Álvarez, L. (2017). Efectividad del sistema de puntuación de Nugent en el diagnóstico de vaginosis bacteriana. *Revista Archivo Médico de Camagüey*, 21(6), 729-739. Algburi, A., Zehm, S., Netteb, V., Weeks, R., Zubovskiy, K. and Chikindas, M. L. (2018). Benzoyl Peroxide Inhibits Quorum Sensing and Biofilm Formation by *Gardnerella vaginalis* 14018. *Infect Dis Obstet Gyneco*, 1426109-1426109. Schwebke, J. R., Muzny, C. A. and Josey, W. E. (2014). Role of *Gardnerella vaginalis* in the pathogenesis of bacterial vaginosis: a conceptual model. *J Infect Dis*, 210(3), 338-43.