

# Estudios moleculares de cepas invasivas de *Streptococcus agalactiae* (SGB)

Margarita Laczesky, Marta Vergara, Eduardo Pegels, Patricia Oviedo, Marina Novosak,  
Paula Soto, Marina Quiroga

Cátedra de Bacteriología, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales.  
Instituto de Biotecnología Misiones «Dra. Ebe Reca» (InBioMis).  
Universidad Nacional de Misiones. Argentina

[mlaczeski@gmail.com](mailto:mlaczeski@gmail.com)

El grupo de investigación trabaja desde el año 2004 con diferentes proyectos vinculados al estudio de *Streptococcus agalactiae* (SGB).

SGB permanece aún como una de las causas más frecuentes de morbilidad y morbilidad en recién nacidos. La colonización del tracto genital de la embarazada a término de su edad gestacional, está significativamente asociada a estas infecciones. Los recién nacidos adquieren SGB en el útero por vía ascendente a través de la ruptura de membranas intactas o durante el proceso del parto.

SGB es un microorganismo parte de la microbiota habitual de los tractos genitourinario y gastrointestinal humanos. Es también reconocido como un importante patógeno en pacientes inmunocomprometidos e inmunocompetentes, siendo responsable de infecciones de piel y tejidos blandos, de endocarditis e infecciones osteoarticulares, principalmente.

Con el objetivo de prevenir la morbilidad y mortalidad del recién nacido, el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC), ha recomendado dos estrategias con la finalidad de identificar a las madres que, en edad gestacional a término, están colonizadas con SGB y prevenir la enfermedad perinatalógica.

Estas estrategias consisten en identificar los siguientes factores de riesgo: nacimiento previo con enfermedad invasiva por SGB, bacteriuria por SGB durante el embarazo, parto prematuro (antes de las 37 semanas de gestación), temperatura intraparto igual o mayor de 38°C, rotura prematura de membrana igual o mayor de 18 hs y la portación de SGB en el tracto genito anal de la embarazada entre las 35-37 semanas de gestación.

Detectada la colonización materna la profilaxis intraparto (PIP) administrada con penicilina o ampicilina, resulta

en una disminución significativa de las infecciones invasivas neonatales. En aquellas embarazadas con intolerancia a la penicilina, la administración de eritromicina (ERI) y clindamicina (CLI) están recomendadas.

La severidad de la enfermedad neonatal está determinada en gran medida por una serie de factores de virulencia codificados entre otros por el gen *cps* que codifica la cápsula y genes que codifican proteínas de superficie, necesarios todos para la interacción celular huésped-bacteria.

Un importante factor de virulencia es la cápsula. Su estructura polisacárida posibilita la distinción en 10 serotipos (Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX). Estos serotipos capsulares presentan en su distribución variaciones temporales, étnicas y según el lugar de residencia de la embarazada.

La primera proteína de superficie identificada en SGB fue el antígeno C, compuesto por las proteínas  $\alpha$  y  $\beta$ . SGB puede así expresar la proteína  $\alpha$ -C o la proteína  $\beta$ -C o ambas a la vez.

La proteína  $\alpha$ -C y la proteína  $\beta$ -C son codificadas por los genes *bca* y *bac*, respectivamente. La  $\alpha$ -C se asocia a la invasión de la célula epitelial y  $\beta$ -C a la inhibición de la fagocitosis al interactuar con la fracción Fc de las IgA

La proteína Rib, muy asociada a las cepas invasivas es codificada por el gen *rib*.

Otro factor de virulencia, la enzima de superficie, ScpB (C5a peptidasa) codificada por el gen *scpB*, está involucrada en el daño a neutrófilos y en la unión de la fibronectina para promover la adherencia y la invasión bacteriana de las células epiteliales.

Una proteína de superficie, la Lmb, que media en la adherencia a la laminina humana con daño epitelial, colaborando en la invasión del huésped es codificada por el gen *lmb*.

La proteína HylB codificada por el gen *hylB*, colabora en la diseminación a través de los tejidos, con deterioro en el transporte de leucocitos.

El gen *cylE* codifica una  $\beta$ -hemolisina que es una toxina asociada a la injuria de tejidos y diseminación sistémica contribuyendo a la meningitis.

Los estudios actuales han demostrado la capacidad de SGB para invadir células humanas. Sin embargo, los acontecimientos subyacentes a la invasión de la célula huésped son aún escasamente conocidos.

Son varias e importantes las interacciones entre la matriz extracelular y SGB que han sido reportadas y propuestas para la adhesión e invasión bacteriana.

Recientemente se ha identificado en SGB una proteína de adherencia a fibrinógeno, la cual se adhiere fuertemente a las células epiteliales pulmonares y protege a la bacteria de la opsonización en el torrente sanguíneo humano, la proteína FbsB codificada por el gen *fbsB*. Esta proteína, también se asocia a la invasión epitelial.

Una nueva proteína, la FbsA, codificada por el gen *fbsA* protege a la bacteria de la opsonización-fagocitosis y promueve su adherencia a las células epiteliales, sobre todo del endotelio cerebral, colaborando para que el patógeno atraviese la barrera hematoencefálica conduciendo a la meningitis.

Esta hipótesis de que la invasión de las células huéspedes representa un mecanismo importante en la patogenicidad invasiva de SGB y su progresión a neumonía, sepsis y meningitis, fue sostenida en el desarrollo de este trabajo y apoyada en este informe presentado aquí en cepas invasivas neonatales y su correspondiente aislado materno.

Desde la observación de Lancefield en la década del 70, trabajando con modelos animales, referida a la protección que confiere el antígeno C contra las infecciones por SGB, se implicó a estas proteínas de superficie, junto a la cápsula como generadoras de una respuesta inmune protectora, lo que vincula el estudio de los mencionados factores de virulencia a la generación de vacunas maternas que prevengan la enfermedad neonatal.

Con respecto a los perfiles de sensibilidad a macrólidos de SGB, en la actualidad, se conoce con certeza, la aparición de cepas resistentes a eritromicina (ERI) y clindamicina (CLI), de allí la importancia de monitorear la susceptibilidad a estos antimicrobianos e identificar los genes asociados a la misma.

Se han detectado dos mecanismos de resistencia a macrólidos en SGB.

El mecanismo más frecuente es el de modificación del sitio blanco ribosomal por metilación y el mecanismo llamado de eflujo o transporte activo de la droga.

La metilación de la subunidad 23S del rARN por el gen *erm* (eritromicina ribosomal metilasa) *ermB*, *ermA* (subclase

*ermTR*), causa un cambio conformacional en el ribosoma procarionota y bloquea la unión de los macrólidos, lincosamidas y estreptogramina B al sitio de unión en la subunidad 50S, conduciendo a resistencia.

Este mecanismo confiere resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptogramina B (MLS<sub>B</sub>). Las metilasas pueden expresarse constitutivamente (fenotipo de resistencia constitutivo cMLS<sub>B</sub>) o en forma inducible (fenotipo de resistencia inducible iMLS<sub>B</sub>).

El mecanismo llamado de eflujo activo fue descrito como mediado por el *mefA* y confiere resistencia a macrólidos pero no a lincosamidas ni a estreptogramina B (fenotipo M).

La resistencia constitutiva cMLS<sub>B</sub> y la inducible iMLS<sub>B</sub>, ambas están relacionadas con la expresión genes *erm*.

La variable constitutiva presenta elevado nivel de resistencia a cualquier antimicrobiano del grupo MLS<sub>B</sub>, a diferencia de la inducible que presenta únicamente resistencia a los macrólidos de 14 átomos (ERI) y 15 átomos (azitromicina) y sensibilidad in vitro a macrólidos de 16 átomos, lincosamidas (CLI) y estreptograminas B.

En virtud a estos antecedentes y a estudios recientes que incorporan modificaciones a las probables vías de infección del recién nacido, los esfuerzos se encuentran destinados al desarrollo de vacunas maternas que otorguen protección humoral al niño, independientemente de las condiciones antes, durante y después del alumbramiento y a la vigilancia de la resistencia a antibióticos.

Por todo lo expuesto, nuestro esfuerzo se destina al estudio molecular de factores de virulencia que puedan estar implicados en el desarrollo de estrategias vacunales para la región y a la búsqueda de genes asociados a resistencia a macrólidos en SGB.

## PUBLICACIONES DEL LOS ULTIMOS 5 AÑOS

Keil A, Laczeski M, Oviedo P, Pegels E, Quiroga M, Fonseca MI, Vergara M. (2010). Detección del gen *rib* en cepas invasivas y colonizantes de *Streptococcus agalactiae* en Misiones. Revista de Ciencia y Tecnología. 14:25-28.

Oviedo P, Pegels E, Laczeski M, Quiroga M, Vergara M. (2013). Phenotypic and genotypic characterization of *Streptococcus agalactiae* in pregnant women. First study in a province of Argentina. Braz J Microbiol. 44:253-258.

Laczeski ME, Pegels ER, Oviedo PN, Quiroga MI, Vergara MI. (2013). *Streptococcus agalactiae*: medios de conservación accesibles a laboratorios de diagnóstico de baja y mediana complejidad. Revista Cubana de Higiene y Epidemiología. 51:129-139.

Laczeski M, Pegels E, Oviedo P, Quiroga M, Vergara M. (2013). Primer Estudio en Misiones de Genes de Resistencia a Macrólidos en *Streptococcus agalactiae*. Rev. Cienc. Tecnol. 20:66-72.

Laczeski M, Pegels E, Oviedo P, Quiroga M, Vergara M. (2014). Molecular profiles and antimicrobial susceptibility of first isolates of *Streptococcus agalactiae* serotype IX in Argentina. Adv in Microbiol. 4:317-323.