

## LECTURA COMPLEMENTARIA

### TALLER N°7

#### **NEUMOCOCO: OTRO “REDONDO”...**

*S. pneumoniae* representa un patógeno de gran importancia en la historia de la microbiología.

Hace más de cien años, en 1881, fue aislado simultáneamente en el Viejo Mundo (Pasteur, Francia), y en el Nuevo Mundo (Sternberg, EEUU), recibiendo diferentes denominaciones.

A fines de de la década de 1880, el término *Pneumococcus* se generalizó, ya que se identificó como la causa más frecuente de neumonía lobar. En 1926 se le llamó *Diplococcus* por su apariencia lanceolada a la Coloración de Gram de esputos, y en 1974 se renombró, esta vez como *Streptococcus pneumoniae*.

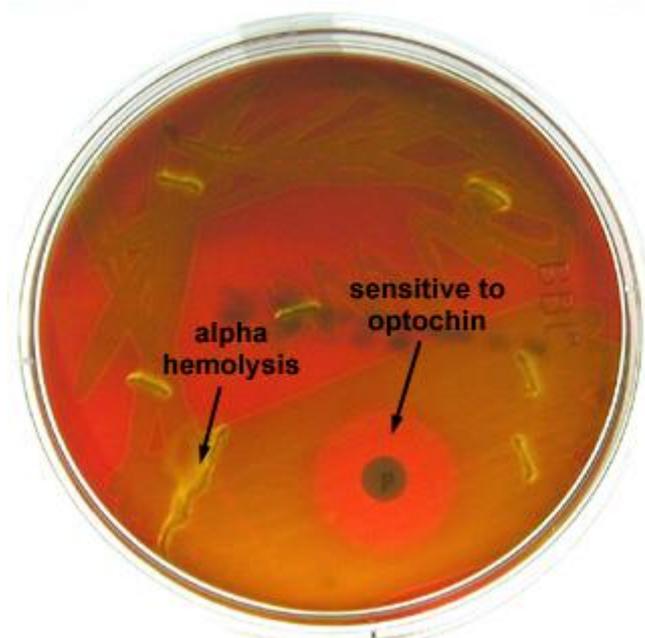


ASM MicrobeLibrary.org © Tomalty

Un hecho destacable acerca de *S. pneumoniae* ha sido su **papel central en el descubrimiento del ADN**: en 1920, Griffith demostró en forma experimental que la inyección en ratones de neumococos no capsulados vivos, junto con neumococos encapsulados muertos por calor, daba origen a la aparición de cepas encapsuladas (y por tanto, viables) produciendo infección en dicho huésped. A este proceso se le llamó **transformación**, pero permaneció sin mayores explicaciones hasta 1940, cuando Avery y cols. proporcionaron evidencia acerca de que estos mutantes habían recuperado la capacidad de producir cápsula al captar ADN de los microorganismos virulentos muertos. Así fue como se llegó a la conclusión de que **el ADN era el principio transformante, y además, lo que es más importante, constituía el material genético que codifica el fenotipo.**

---

*S. pneumoniae* es un coco Gram positivo catalasa negativo encapsulado. Las células tienen de 0,5 a 1,2  $\mu\text{m}$ , presentando **forma ovalada o lanceolada**. Las colonias que crecen en agar sangre son **alfa hemolíticas** y con el paso del tiempo experimentan autólisis, que les otorga un **aspecto umbilicado** o deprimido en el centro. Es un **microorganismo exigente** desde el punto de vista nutricional, ya que requiere la presencia de sangre en el medio de cultivo, como también incubación en atmósfera microaerófila.



Este microorganismo se encuentra **colonizando la rinofaringe de individuos sanos**; la incidencia de colonización es variable, del 5 al 75%, ya que depende tanto del método empleado para detectarlo como de la población estudiada. Sin embargo, la colonización es más frecuente en niños y en meses de invierno. Las cepas de neumococo capaces de producir enfermedad son las mismas que las que se asocian a portación. Además, dicha colonización es de carácter transitorio, alternándose en dicho proceso los diferentes serotipos existentes.

La enfermedad sobreviene cuando los microorganismos que colonizan la naso y bucofaringe llegan a zonas normalmente estériles, debido a un fracaso en alguno de los mecanismos de defensa del huésped. ***S. pneumoniae* es causa reconocida y frecuente de neumonía, meningitis, otitis media y sinusitis**, y con menor frecuencia de endocarditis, artritis, y peritonitis.

Casi todas las cepas de *S. pneumoniae* contienen una cápsula externa. Las cepas capsuladas son virulentas, mientras que las que no poseen esta estructura carecen de virulencia.

La conocida **Reacción de Quellung o “hinchazón capsular”** permite la diferenciación en serotipos, de los cuales a la fecha se conocen 90. En dicha reacción se mezclan anticuerpos anticapsulares polivalentes con las bacterias, para después buscar al microscopio la presencia de mayor refringencia alrededor de las bacterias. Sin embargo, es una prueba compleja que generalmente se realiza en Laboratorios de Referencia con fines epidemiológicos o para investigación en vacunas. Los serotipos que originan enfermedad humana con mayor frecuencia fueron los primeros en identificarse y a los que primero se les asignó un número, por eso los de número menor son los que se aíslan generalmente de infecciones humanas.

En todos los neumococos se han identificado secuencias de ADN implicadas en la formación de la cápsula. Como parte de su **mecanismo de quórum sensing**, *S. pneumoniae* expresa una **proteína sensora de competencia** y sufre alteraciones que le otorgan la **capacidad para interiorizar ADN de otros neumococos u otras especies bacterianas**, en el proceso denominado **transformación**.

Como consecuencia de esta propiedad, *S. pneumoniae* puede adquirir nuevos atributos, en este caso codificados en elementos genéticos denominados “cassetes de ADN”. Estos eventos de transformación de los tipos capsulares se pueden producir en forma experimental (como en el experimento de Griffith, ya citado anteriormente), pero

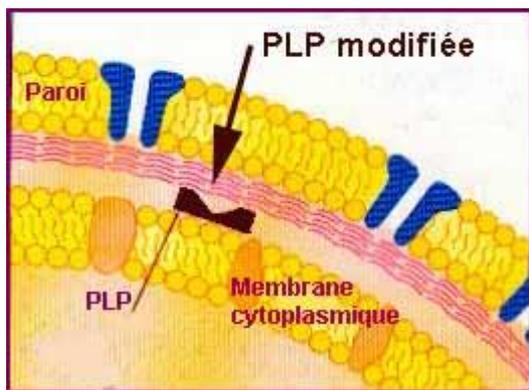
también ocurren en la naturaleza. ¡Esto quiere decir que algunas cepas de neumococo pueden intercambiar sus cápsulas in vivo!

### **Transformación y resistencia a antimicrobianos en *S. pneumoniae***

Los neumococos **se han vuelto resistentes al adquirir material genético de otras bacterias con las que coexisten en íntima proximidad, tales como estreptococos del grupo viridans**, colonizantes habituales de la oro y rinofaringe.

En dichos cassettes genéticos adquiridos por transformación puede estar codificada también, por ejemplo, la información de **resistencia a penicilina**, uno de los antibióticos que más se ha utilizado para el tratamiento de infecciones producidas por esta bacteria, y a otros antimicrobianos.

**La resistencia a penicilina en *S. pneumoniae* se debe a una alteración del sitio blanco del antimicrobiano, las PLP (o proteínas ligadoras de penicilina), las cuales, al modificarse, disminuyen su afinidad por el betalactámico.**



Se ha comprobado que la secuencia alterada en el gen de una PLP de muchas cepas resistentes a penicilina parece haberse originado en *Streptococcus mitis* (una especie del grupo viridans), como parte de un proceso de transformación.

**La incomparable capacidad de *S. pneumoniae* para transformarse ha originado una gran diversidad en el genoma de las distintas cepas (por adquisición y reordenamiento de DNA), a tal punto que en algunas cepas, las PLP están codificadas por genes denominados mosaico.**

*S. pneumoniae* posee diversos factores de virulencia:

- **Cápsula:** de composición polisacárida, desempeña un papel fundamental en la prevención de la fagocitosis, es capaz de activar la vía clásica del complemento y es antigénica. Esta última propiedad ha sido utilizada para la elaboración de vacunas, y también es el antígeno que nos permite hacer diagnóstico microbiológico directo en los casos en que no se ha podido obtener la bacteria en cultivo (fundamentalmente en los casos de meningitis previamente tratadas con antibióticos).

Los anticuerpos que se producen frente a la cápsula son protectores, aunque sólo lo son para el serotipo infeccioso.

- **Neumolisina**, o alfa-hemolisina (PLY), que degrada la hemoglobina transformándola en un pigmento verde (ya que crea “poros” al actuar sobre el colesterol de la membrana de los hematíes). Como consecuencia de ello, las colonias neumocócicas cuando crecen en un medio de agar sangre están rodeadas de una zona verde.

*Sin embargo<sup>1</sup>, en el huésped, el PLY trabaja en múltiples niveles para facilitar la invasión, contribuyendo al daño directo de las células y al escape del sistema inmunológico del huésped. Se sabe desde hace tiempo que PLY exhibe actividad citotóxica para prácticamente todos los tipos de células del cuerpo. Las células endoteliales del pulmón, así como las células epiteliales nasales y traqueobronquiales se dañan como resultado de la actividad de formación de poros (Steinfort et al., 1989; Rubins et al., 1992; Rayner et al., 1995). Los mutantes que carecen de PLY no logran inducir daños en la mucosa pulmonar (Rubins et al., 1995). Las lesiones pulmonares agudas también se han atribuido a los efectos del PLY en factores específicos del huésped, como el aumento de la liberación del factor activador de plaquetas, que contribuye a las acciones proinflamatorias, el aumento de la permeabilidad vascular y la vasoconstricción (Witzenrath et al., 2007). La neumolisina puede activar las plaquetas in vitro mediante el influjo de calcio debido a la formación de poros subclíticos, lo que puede potenciar de forma similar la inflamación de los pulmones (Nel et al., 2016).*

<sup>1</sup> Nishimoto et al. . Pneumolysin: Pathogenesis and Therapeutic Target. Front Microbiol 2020 Jul 2;11:1543.doi: 10.3389/fmicb.2020.01543.

*Durante el curso de la formación de los poros, los monómeros de PLY se unen a la membrana de la célula objetivo e interactúan con otras moléculas de PLY, empaquetándose una al lado de la otra para formar el complejo pre-poroso (Marshall et al., 2015). Después de sufrir más cambios de conformación, el último poro en forma de anillo de aproximadamente 30-50 subunidades de PLY se inserta en la membrana (Tilley et al., 2005). Estas formaciones porosas y pre-porosas en la membrana celular se desprenden inicialmente en microválvulas inducidas por toxinas como mecanismo de reparación, con efectos citotóxicos que se producen a través de la desregulación de la homeostasis celular por el influjo de calcio (Wolfmeier et al., 2016). La inserción repetida de numerosos complejos PLY formadores de poros puede resultar en la desestabilización de la membrana, la pérdida de la homeostasis de los iones y, en última instancia, la muerte celular. El influjo de calcio intracelular a través de los poros formados en la membrana celular puede desencadenar cambios en la ultraestructura de la membrana mitocondrial de la célula huésped, la pérdida del potencial de la membrana mitocondrial y la liberación del factor inductor de la apoptosis mitocondrial (Braun et al., 2007; Nerlich et al., 2018). Además, el PLY puede inducir roturas de doble cadena en el ADN celular, lo que da lugar a la pérdida de la integridad genómica y a una mayor citotoxicidad (Rai et al., 2016).*

- **Ácidos teicoicos y peptidoglicano:** La pared celular de *S. pneumoniae*, formada por estas sustancias activa al complemento a través de la vía alternativa.; además, estimulan a los leucocitos a través de los llamados *toll-like* receptors, generándose una importante respuesta inflamatoria con liberación de citoquinas, a la cual se suma la estimulación por parte de la neumolisina y la autolisina.
- **Autolisina:** es una amidasa que disgrega la pared bacteriana por el sitio de unión de las proteínas troncales. En la naturaleza, esta enzima contribuye a remodelar la pared celular, mientras que en la enfermedad contribuye al daño tisular al liberar componentes del peptidoglicano que actúan activando el sistema de complemento.

- **Proteínas de superficie:** intervienen en la adhesión y penetración a las células del huésped.
  
- **IgA Proteasa:** Actúa impidiendo la acción de este importante factor presente en las secreciones en el epitelio de las células del tracto respiratorio superior.